

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

JEAN BABLET

(1886-1952)

Jean Bablet s'est éteint le 25 septembre après une longue et douloureuse maladie. Médecin du Corps de Santé colonial, il était depuis trente-cinq ans attaché à l'Institut Pasteur, soit hors cadres dans ses filiales d'outre-mer, soit, après une retraite anticipée, à la direction du laboratoire d'Anatomie pathologique dont Albert Calmette lui avait, à ses côtés, confié la création.

De la vie coloniale il devait connaître les plus dures épreuves. Né à Quimper, le 5 juin 1886, il débutait, jeune médecin, à sa sortie des écoles de Bordeaux et de Marseille, en Afrique équatoriale, à Bangui et à Fort-Crampel. Au cours d'une tournée pour le dépistage des trypanosomés, il est attaqué par une panthère et très grièvement blessé. D'un phlegmon diffus du bras gauche consécutif à cette blessure, il conservera une ankylose de l'articulation du coude. Et il rentre en France en 1914, juste à temps pour partir aux Armées. Relevé du front en 1916 pour retourner en Afrique équatoriale il contracte au poste de Mobaye, en Oubangui-Chari, la maladie du sommeil. Rapatrié en novembre 1917, il est mis en traitement à l'hôpital Pasteur. L'occasion s'offre à lui d'occuper sa longue hospitalisation en travaillant pendant deux ans dans le laboratoire d'Auguste Pettit, devenu son maître et son ami. Il lui doit sa spécialisation d'anatomopathologiste qui dominera toute sa carrière. En 1920, c'est en

Indochine qu'il reprend du service colonial à l'Institut Pasteur de Saïgon et plus tard à l'Institut Pasteur de Hanoï, dont il a été le premier directeur. Après douze années de séjour, il rentre définitivement en France, sa santé gravement compromise par l'usure, en Afrique et en Extrême-Orient, de sa robuste constitution. Sur la voie du retour, le paquebot qui le porte prend feu et sombre dans l'Océan Indien, entraînant la perte de tous les documents, de tous les matériaux de travail qu'il rapporte. M. Calmette lui conseille alors de prendre une retraite anticipée et lui confie la création du laboratoire d'Anatomie pathologique, où il a travaillé pendant vingt ans jusqu'à son dernier jour. Ce fut le plus grand honneur de sa vie. Il était pénétré de la pensée pastorianne et profondément attaché à tous ceux qui la lui ont transmise.

*
* *

Ce laboratoire, répondant aux appels des services de la Tuberculose et de tous les travailleurs de l'Institut Pasteur, a pris des contacts multiples avec certains hôpitaux de Paris. Par l'enseignement qu'il donne aux pastoriens d'outre-mer il fait école ; il devient le conseiller des recherches anatomo-pathologiques poursuivies sur les territoires de l'Union Française.

Dans plus de 200 notes ou mémoires Jean Bablet a abordé, tant au point de vue bactériologique qu'histologique, outre les recherches sur la tuberculose, un grand nombre d'études de pathologie exotique et plus spécialement sur les dysenteries, l'abcès du foie, le choléra, le bérubéri, la peste, la lèpre, la rage, les typhus, etc. Il a écrit d'autre part de nombreux articles sur les problèmes d'hygiène et de prophylaxie et sur les grandes endémies tropicales.

Retenons, comme exemples de l'ensemble de son œuvre, les recherches avec Ivan Bertrand sur l'inoculation intracérébrale de bacilles tuberculeux et paratuberculeux chez les singes inférieurs, le cancer dans les races de couleur, l'hépatite amarile et le diagnostic différentiel avec les hépatites de causes diverses pouvant faire suspecter la fièvre jaune, les maladies par carences alimentaires.

Au moment où Jean Bablet en a abordé l'étude parmi les populations indochinoises, on pensait généralement dans les milieux médicaux que les races colorées étaient réfractaires au cancer. L'envoi au laboratoire de pièces prélevées dans les cas suspects par tous les chirurgiens d'Indochine ne tarda pas à révéler que la fréquence du cancer est sensiblement équivalente à celle que l'on observe dans les pays tempérés. Ce fut le point de départ de la création de centres anticancéreux pour le dépis-

tage et le traitement. Certaines localisations offrent toutefois chez le Vietnamiens une fréquence anormale, sarcomes du cou, néoplasmes de la muqueuse buccale, épithélioma de la verge. Par contre, les cancers des organes digestifs qui représentent le plus grand nombre des tumeurs malignes en Europe sont rarement constatés. La proportion des tumeurs d'origine conjonctive (sarcomes) par rapport aux néoplasmes épithéliaux est très élevée (6 pour 1). L'âge du cancer est notablement abaissé. Des centaines d'examen de pièces provenant d'Afrique occidentale, de Madagascar, d'Afrique équatoriale, des Antilles, permettent d'affirmer que la Race noire n'offre pas au cancer plus de résistance que les Blancs ou les Jaunes. Mais le cancer du foie y paraît plus particulièrement fréquent. Les causes de ces différences dans les localisations apparaissent parfois dans les coutumes qui favorisent les irritations locales.

Les observations de Bablet sur des centaines d'échantillons de foies prélevés dans les diverses formes d'hépatites des pays chauds lui ont permis d'établir une formule histologique qui autorise le diagnostic formel d'hépatite amarile. Des planches en couleur très démonstratives ont été publiées dans un ouvrage dont l'édition a été rapidement épuisée. A la suite de ces travaux la Fondation Rockefeller, en lui confiant une mission au Brésil en 1939, a permis à Bablet de vérifier la portée générale de ses observations sur la riche collection de foies rassemblée par viscérotomie dans les divers pays de l'Amérique du Sud.

Les lésions consécutives aux carences alimentaires font l'objet de plusieurs de ses publications. Dans les semaines qui ont précédé sa mort, Bablet a terminé, avec la collaboration clinique du Dr J. Canet, qui lui a apporté un matériel très abondant, une étude relative à des troubles de la nutrition, chez les enfants indochinois, troubles assimilables, avec des variétés symptomatiques au « kwashiorkor » des auteurs africains, sur le plan histo-physiologique aux phénomènes de Reilly. Il met en lumière, auprès des lésions du foie et du pancréas, les altérations très importantes des reins et des surrénales. L'alimentation déficiente, par insuffisance de protéines animales et augmentation excessive de la ration glucidique apparaît comme un véritable agent d'agression déterminant « une atteinte de toutes les fonctions du système neuro-végétatif étroitement lié au système endocrinien ».

*
* *

Le vaste champ de relations de J. Bablet dans le domaine de ses travaux de laboratoire fait un vif contraste avec son goût de l'effacement et de la solitude. L'indépendance de son caractère, un fonds de timidité, un stoïcisme, forgé à la rude école des

épreuves douloureuses que la vie ne lui avait pas épargnées, rendaient son abord froid et réservé. Il fallait aller à lui pour le connaître. Mais aussitôt naissaient les attachements les plus fidèles et les plus dévoués. Qui peut oublier l'émouvant exemple de force morale qu'il a donné dans les derniers mois de sa vie alors que, courbé par la souffrance, mais non vaincu par elle, il a, sans défaillir, poursuivi son labeur ?

Ceux d'entre nous qui ont acquis sa confiance et son amitié conserveront le souvenir de sa personnalité originale et forte, de son esprit clair, de sa vive sensibilité, de la générosité de ses sentiments, de la fidélité et de la sûreté de son affection.

L'IMMUNITÉ DANS LES INFESTATIONS PARASITAIRES

par R. DESCHIENS et M. POIRIER.

(Institut Pasteur. Groupe des Services de Parasitologie.)

L'évolution des infestations parasitaires est habituellement subaiguë ou chronique. Ce caractère évolutif confère aux phénomènes d'immunité, que les infestations parasitaires peuvent engendrer, des caractères particuliers.

L'immunité acquise observée dans les infestations parasitaires est, le plus souvent, une *immunité acquise relative* [immunité tolérance (Mesnil et Plehn) ou immunité prémunitive (Sergent)] se rattachant à une prémunition.

La prémunition, cependant, ne se sépare pas de l'immunité, elle n'en est qu'un aspect particulier.

Ces réserves étant faites, tous les termes de passage entre l'état réfractaire et la réceptivité peuvent exister dans l'immunité parasitaire, comme dans l'immunité, en général, et l'on doit distinguer : l'immunité parasitaire naturelle, l'immunité parasitaire acquise complète ou relative, l'immunité parasitaire provoquée.

L'IMMUNITÉ NATURELLE peut être *complète* ou *relative*. Un exemple d'immunité naturelle complète, en parasitologie, peut être pris dans l'état réfractaire de l'homme vis-à-vis du paludisme des rongeurs et du paludisme aviaire et, inversement, dans l'état réfractaire des rongeurs et des oiseaux vis-à-vis du paludisme humain. Pour des espèces voisines, l'immunité naturelle peut n'être que relative, c'est ainsi que le paludisme des rongeurs à *P. berghei*, bénin chez le lapin, est constamment mortel chez la souris, alors que, chez le rat, la maladie évolue vers la guérison dans 80 p. 100 des cas et confère à l'animal un état réfractaire vis-à-vis d'une inoculation ultérieure. C'est ainsi encore que l'homme peut être infesté par le paludisme à *P. knowlesi* des singes, mais ne présente qu'une maladie bénigne guérissant spontanément et que le chimpanzé peut faire une infection abortive par *P. vivax* de l'homme (Mesnil et Roubaud, 1919 ; J. Rodhain et Delaert, 1943), immunité spécifique, immunité de groupe. Autres exemples : certains singes, comme les Cynocéphales du genre *Papio*, sont généra-

lement réfractaires à l'infection par *T. gambiense*, alors que certains Cercopithèques, *Cercopithecus lasiopygia pitaurista* sont sensibles.

L'IMMUNITÉ ACQUISE dans les infestations parasitaires n'aboutit jamais à la destruction totale des agents agresseurs, ce n'est donc pas une immunité acquise complète comme celle qui s'observe dans de nombreuses infections bactériennes. « La maladie, au sens clinique du mot, cesse, mais l'infection continue » (E. Sergent). On se trouve en présence d'un état de primo-infection ou d'infection occulte qui peut être traduit, comme nous l'avons déjà dit, par le terme d'*immunité relative* (J. Bordet), d'*immunité tolérance* (F. Mesnil) ou de *prémunition* (Sergent); dans cet état d'immunité, les actions de défense de l'hôte empêchent la multiplication des parasites et un équilibre compatible avec un état de santé apparent et avec une activité paranormale s'établit entre l'hôte et le parasite.

Cet état est réalisé, par exemple, dans la Piroplasmose dite Fièvre du Texas, où quelques piroplasmes persistant dans le sang des viscères profonds d'animaux guéris confèrent à ceux-ci un état réfractaire permanent vis-à-vis d'une réinfection. A. Sergent a montré que des cobayes infectés expérimentalement de spirochétose hispano-africaine à *Spirochaeta hispanica* et pas cliniquement guéris, présentaient, trois ans après la guérison clinique, des spirochètes dans le cerveau; des broyats de cet organe se montrant, à ce moment, infectieux pour des cobayes neufs. A. Catanei a mis en évidence, pendant plusieurs mois de suite, des spirochètes récurrents chez des enfants algériens ne présentant aucun signe morbide. Il s'agit, au fond, d'une persistance de la maladie sous une forme atténuée qui confère à l'organisme une résistance à de nouvelles implantations parasitaires (Bordet). La prémunition agit, en quelque sorte, comme une antigénothérapie permanente alertant de façon durable les défenses organiques. L'état de *prémunition* peut être défini par les caractères suivants (Sergent) :

1° L'organisme en état de prémunition, c'est-à-dire en état d'infection latente par un parasite, est en état de résistance complète ou incomplète contre une surinfection par celui-ci. Un exemple d'état réfractaire complet est celui de la poule cliniquement guérie d'une infection par *Plasmodium gallinaceum* qui ne peut être réinfectée expérimentalement par une souche virulente de ce parasite. Un exemple d'état de résistance incomplète peut être pris chez les sujets porteurs d'œufs de *Schistosoma mansoni* qui se trouvent protégés contre des infestations massives ou contre le développement d'une bilharziose vésicale grave du fait de leur immunité relative, mais offrent une maladie chronique.

2° Un second caractère important de la *prémunition* parasitaire apparaît dans le fait que, lorsque l'infection latente (constituant la *prémunition*) cesse, le sujet devient vulnérable à une nouvelle infestation identique.

Chez les canaris, un état de *prémunition* vis-à-vis de *P. relictum*, agent d'un paludisme des passereaux, un traitement par des antipaludiques entraînant la disparition des parasites résiduels *prémunisants* a, pour conséquence, la possibilité de réinfestation des animaux parasitologiquement guéris, par une souche virulente de *P. relictum*.

3° Un troisième caractère est la nécessité de l'inoculation expérimentale d'un virus vivant pour assurer la *prémunition* dans l'immunité provoquée.

Les particularités de la *prémunition* (état de résistance à une surinfection, cessation de l'immunité relative si les germes disparaissent) ne s'opposent pas, comme nous l'avons dit, à l'immunité ; elle relève des mêmes facteurs et du même mécanisme que celle-ci. Il est rationnel, immunologiquement parlant, que des sujets *prémunis* contre un parasite soient résistants à des surinfections par ce parasite et que ces surinfections ne créent pas une maladie différente de celle provoquée par les éléments parasitaires déjà présents. Il est rationnel que, dans un état d'immunité relative et, par conséquent, précaire et fragile, les réactions humorales protectrices disparaissent rapidement après la disparition des parasites qui les ont suscitées. Il est rationnel que des germes atténués vivants soient préférables à des germes tués, pour assurer une immunité provoquée relative, puisque c'est la permanence des germes qui assure le mieux les réactions humorales protectrices dans la *prémunition*. La *prémunition* peut se comprendre comme un foyer tissulaire actif mais limité, déversant dans le sang des substances antagonistes des parasites qui s'opposent à l'invasion sanguine par ceux-ci.

La relativité et la précarité de la *prémunition* ressort du fait que les surinfections massives chez les sujets *prémunis* peuvent déterminer des accès ou des poussées évolutives atténuées ou modifiées de la maladie. C'est ainsi que les sujets *prémunis* contre la fièvre récurrente à *Spirochaeta recurrentis* surinfectés présentent un accès fébrile habituellement unique, que E. Sargent décrit sous le nom « d'accès de *prémuni* ».

Au cours des *Maladies à Protozoaires*, une immunité acquise du type *prémunition*, définitive ou relative, peut être observée, en particulier, dans les Spirochétoses (*S. recurrentis*, *S. hispanica*, *Sp. duttoni*), dans les coccidioses (*Eimeria*, *Isospora*), dans les Piroplasmoses (*Babesia bovis*, *Theileria parva*) et dans les Trypanosomes (*T. lewisi*, *T. cruzi*).

Il semble que la plupart des Spirochétoses soient des infes-

tations à prémunition ; il en est ainsi de la syphilis. « La syphilis ne se double pas », disait Ricord ; tant que le tréponème est présent, la surinfection n'est pas réalisable, mais lorsque l'infection a été stérilisée par une thérapeutique efficace, le sujet guéri peut contracter de nouveau la syphilis (E. Roux et E. Metchnikoff, Neisser).

Il en est de même dans les spirochètoses des fièvres récurrentes à *S. recurrentis*, à *S. duttoni* et à *S. hispanica*.

Dans les piroplasmoses, la prémunition entraînant un état réfractaire est observée, en particulier, dans les piroplasmoses bovines à *Babesia bovis*, à *Theileria mutans*, à *T. parva*.

Dans le paludisme aviaire à *P. relictum* du canari et à *P. gallinaceum* de la poule, la prémunition confère un état réfractaire complet.

Dans le paludisme humain, les infections latentes bien tolérées, que l'on observe souvent en milieu indigène, participent, pour partie, de la prémunition ; cependant la prémunition vis-à-vis d'une espèce de Plasmodium, *P. vivax*, par exemple, ne protège pas contre une surinfection par une autre espèce, *P. falciparum*, par exemple ; nombreux sont, en effet, les cas observés d'infestation mixte.

Dans les Trypanosomoses, l'état de prémunition conférant un état réfractaire s'observe dans les infections à *Schizotrypanum cruzi* et à *Trypanosoma lewisi* (Laveran et Mesnil).

Au cours de certaines infestations à *Helminthes*, l'état de *prémunition* relatif peut se constituer. Les Trématodes parasites du sang, comme les Bilharzies peuvent conférer à l'homme et aux animaux un état de résistance à une surinfection tant qu'ils infestent l'organisme. C'est ainsi que, dans les territoires d'endémie de bilharziose, un état de prémunition des populations indigènes peut limiter les réinfestations et le caractère évolutif de la maladie et permettre aux porteurs de parasites une activité para-normale.

Il semble que certaines espèces de Cestodes adultes, parasites de l'intestin et, en particulier, celles qui sont désignées communément sous le nom de « vers solitaires » (*T. solium*, *T. saginata* chez l'homme) s'opposent au développement ultérieur d'individus de la même espèce. Cet état réfractaire pourrait s'étendre selon Wigand (1936) à des espèces différentes et le chien infesté par *Tania serrata* serait réfractaire à l'infestation par le Botriocéphale.

Dans la plupart des infestations à Nématodes, l'état de prémunition ne paraît pas exister. On peut, cependant, admettre avec Brumpt, et pour des raisons épidémiologiques et cliniques (haut pourcentage d'infection des moustiques en région d'endémie, rareté relative des microfilaires dans le sang et dans les voies

lymphatiques) que l'état de prémunition existe dans la filariose à *Wuchereria bancrofti*. Dans la trichinose expérimentale du rat à *Trichinella spiralis*, un état de prémunition relative est également probable. Certains auteurs (Brumpt) ont fait l'hypothèse qu'il existe un état d'immunité locale cutanée vis-à-vis de certaines espèces d'Ixodinsés (W. Trager, 1939 [1] ; J. D. Gregson, 1942 ; A.-G. Chabaud, 1947 et 1950 [2]). C'est ainsi que les larves de *Rhipicéphalus*, chez le chien, ne peuvent se développer normalement sur une partie de la surface cutanée déjà contaminée antérieurement, sous la réserve qu'il peut s'agir là de résultats en rapport avec des modifications histologiques cutanées liées aux traumatismes antérieurs de l'infestation et empêchent les ectoparasites jeunes de piquer ; cette immunité locale peut être admise à la discussion. Ces faits ne s'observent pas avec des Ixodinsés du genre *Hyalomma*.

Il est remarquable que, dans l'ensemble, les états de prémunition efficaces concernent surtout les parasites du sang ou les parasites somatiques.

L'IMMUNITÉ ACTIVE PROVOQUÉE par la vaccination ou par un antigène tué, bien que rarement et difficilement obtenue en parasitologie, est réalisable vis-à-vis de certaines infestations parasitaires à Protozoaires, dans les Piroplasmoses, dans le paludisme des oiseaux et des mammifères et dans les Trypanosomiasés en particulier.

L'état de prémunition par inoculation d'un vaccin vivant peut être obtenu dans certaines piropiasmoses et, singulièrement, dans les piropiasmoses à *Babesia bovis*, en procédant à la vaccination des animaux sains par les procédés suivants :

1° L'inoculation aux veaux par piqûres de tiques (*Ixodes ricinus*, *Hæmaphysalis punctata*) infectées de rares parasites.

2° L'inoculation au moyen de sang de convalescents ne contenant que quelques parasites peu virulents et en des points peu vascularisés (queue).

3° L'inoculation de virus atténué obtenu par culture sur sang défibriné de malade ou par refroidissement entre 0 et 4°.

4° La production d'une maladie expérimentale immédiatement suivie d'un traitement actif (Trypanbleu) qui guérit cliniquement le malade.

Ces procédés d'immunisation sont également valables dans l'anaplasmose bovine à *Anaplasma marginale*.

Dans le paludisme du canard à *Plasmodium lophuræ*, Thomson, Freund, Sommer et Walter (1947) [3] auraient obtenu l'immunisation des oiseaux par l'injection de parasites tués, associés à de l'huile de paraffine et à des bacilles tuberculeux tués ; l'immunité conférée eut une durée de six mois. Le canard vacciné contre *P. lophuræ* est protégé contre *P. cathamedium*.

Dans le paludisme des singes Rhésus à *Plasmodium knowlesi*, J. Freund, K. J. Thomson, H. E. Sommer, A. W. Walter et T. M. Pisani (1948) [4], auraient obtenu une immunité avec un antigène complexe constitué par des plasmodies tués, de l'huile de paraffine et des bacilles tuberculeux tués. Les singes traités (injections intramusculaires d'antigène) puis inoculés avec une souche virulente de *P. knowlesi*, ne présentèrent qu'une parasitémie faible et courte alors que les singes témoins présentèrent un paludisme à évolution mortelle. La durée de l'immunité serait de six à huit mois. S. James et M. Cinca, ayant observé que des hommes convalescents de paludisme expérimental (malaria-thérapie) étaient immunisés contre *P. vivax*, on peut concevoir que la vaccination chez l'homme par *P. knowlesi* confère l'immunité contre *P. vivax*.

Dans les trypanosomiasés du bétail ou des petits animaux de laboratoire, à *Trypanosoma congolense*, à *T. brucei* (haute gravité) et à *T. vivax*, des essais créateurs d'un état de prémunition protecteur par inoculation de jeunes animaux, par des Trypanosomes pathogènes, conjointement à une action chimiothérapeutique (antrycide) (R. N. T. Fiennes) [5] ont été réalisés.

Des essais, à partir de vaccins constitués par des Trypanosomes tués, ont été entrepris dans les Trypanosomiasés animales et humaines mais ils n'ont pas apporté des résultats péremptoires. Cependant, Duke et Lyndhurst utilisant dans les Trypanosomiasés à *T. gambiense*, conjointement l'action du 205 Bayer soit *per os*, soit par la voie veineuse et des injections répétées de Trypanosomes vivants, pendant trois à quatre mois, auraient réussi à créer des états réfractaires se reliant à la prémunition.

Des doses subcuratives de médicament pourraient produire des effets analogues. Dans les helminthiases, l'immunité active provoquée n'a pas été réalisée à notre connaissance.

Nous avons vu que l'état réfractaire relatif, créé par la prémunition provoquée, cesse avec la disparition des parasites antigènes ; l'immunité consécutive à la vaccination par des antigènes tués est de courte durée et ne dépasse pas trois à six mois.

L'IMMUNITÉ PASSIVE résultant de l'injection de sérum d'un sujet immun, contenant des principes protecteurs, à un sujet neuf dans le but de le rendre réfractaire ou de le guérir, technique si riche de succès en pathologie infectieuse, n'intervient pratiquement pas en pathologie parasitaire.

Le sérum d'animaux prémunis, c'est-à-dire en état d'immunité relative, ne contient pas suffisamment de principes protecteurs pour être capable d'assurer à des animaux neufs une résistance de la valeur de celle que peut, au contraire, leur conférer le sérum de sujets immunisés totalement, comme c'est le cas, par

exemple, pour l'infection diphtérique. D'après Miller, Trawinski, Taliaferro et Sarles, la résistance du rat, de la souris prémunis contre des *Ascaris*, des Strongles et des Trichines serait transmissible passivement par le sérum, mais ces données demandent à être encore étayées avant de conquérir droit de cité.

L'immunité passive, conférée dans un but thérapeutique vis-à-vis de venins d'Arthropodes [venin de Scorpion (Castaneda, Sergent)], venin d'Abeilles, venin de Mygale (*Lactrodectus-mactans*), venin de Serpents, concerne des agents agresseurs (par piqûres, morsures) à sécrétions venimeuses et ne rentre pas dans le cadre de l'immunité dans ses rapports avec les agents parasitaires *sensu stricto*.

Il semble établi que l'homme et les animaux porteurs d'Helminthes (Trichines, *Ascaris*, Strongles) deviennent moins réceptifs à ces mêmes Helminthes et il est probable que cette immunité provient d'anticorps agissant sur les larves.

IMMUNITÉ SPÉCIFIQUE ET IMMUNITÉ DE GROUPE. — Les anticorps immunisants observés dans les infestations bactériennes confèrent généralement un état réfractaire homologue de prémunition spécifique. Au contraire, les anticorps sensibilisants observés dans les parasitoses sont souvent hétérologues, dans le cadre d'espèces ou de genres parasitaires voisins, ce qui enlève une partie de leur valeur aux réactions biologiques en parasitologie.

L'immunité de groupe, fréquente dans les infections microbiennes (immunité hétérologue ou para-spécifique) peut, cependant, s'observer dans certaines infestations parasitaires ; il en est ainsi chez les champignons des teignes ; certains de ces champignons bien qu'appartenant à des espèces et même à des genres différents, donnent une immunité de groupe chez le cobaye. Autre exemple, la prémunition provoquée chez le bœuf contre la Piroplasmose à *Babesia bovis*, en partant de ce piroplasma, confère à l'animal un état réfractaire contre *Anaplasma marginale*. Rappelons, enfin, que Wigand (1936) aurait observé que le chien infesté par *Tænia serrata* serait réfractaire à l'infestation par le Botriocéphale, que M. Phisalix a montré que le venin d'Abeille est vaccinant contre le venin de Vipère et que certains animaux guéris d'une intoxication venimeuse sont immunisés contre des intoxications venimeuses hétérologues.

FACTEURS DE L'IMMUNITÉ DANS LES INFESTATIONS PARASITAIRES.

Les fonctions défensives essentielles de l'organisme vis-à-vis des éléments parasitaires sont, comme dans l'immunité bactérienne, la phagocytose (immunité cellulaire) et les élaborations spécifiques du sang et des tumeurs (immunité humorale).

LA PHAGOCYTOSE, dans les infestations parasitaires, s'exerce plus par les macrophages, par les histiocytes (cellules fixes) et par les éléments du système réticulo-endothélial, que par les polynucléaires ou les lymphocytes (microphages).

En effet, certains protozoaires comme les *Leishmanies* (*L. donovani*) vivent dans les leucocytes et sont même parasites du système réticulo-endothélial qu'ils bloquent; de même, le *Cryptocoque*, champignon microscopique de la lymphangite épizootique du Cheval, peut se développer à l'intérieur des leucocytes (Nègre et Boquet).

Dans la trypanosomiase curable du Rat à *T. lewisi* ou expérimentale, la phagocytose est très active, elle est favorisée par les propriétés opsoniques qu'acquiert le sérum; sous leur influence, le Trypanosome adhère aux leucocytes et aux globulins. Le sérum des animaux guéris (Laveran et Mesnil) agglutine les trypanosomes qui forment des rosaces sans les immobiliser complètement.

Thiroux a montré que, si l'on injecte à une souris neuve du sang de souris à *T. gambiense* et du sérum de sommeilieux, l'incubation est plus longue que si l'on injecte le même sang de souris et du sérum humain normal.

Dans le paludisme, les leucocytes mononucléaires et les macrophages du système réticulo-endothélial peuvent capturer et détruire des schizontes et des mérozoïtes.

Les macrophages peuvent se rassembler autour des éléments parasitaires volumineux (œufs d'*Hepaticola hepatica*, Filaires, Microfilaires), se disposer en couches superposées autour du corps étranger parasite, se fusionner en plasmodes ou en cellules géantes multinucléées qui pénétrèrent le parasite, le désagrègent et l'éliminent. Le tissu conjonctif peut s'hyperplasier ou se métaplasier et former des coques ou des membranes fibreuses actives contenant des histiocytes et des macrophages (Gay et Morrisson) autour des foyers envahis par les parasites.

Dans les Helminthiases, la présence de leucocytes éosinophiles dans les foyers d'infiltration (tumeurs à *Onchocerca volvulus*), dans le sang et dans la moelle osseuse est la règle.

Le rôle de la rate dans le pouvoir phagocytaire des tissus et dans le bon fonctionnement du système réticulo-endothélial se révèle important dans les infestations parasitaires et l'on sait que, dans le paludisme expérimental à *Pl. berghei*, chez le Rat (Galliard), chez le Lapin (Deschiens et Lamy) ou chez le Hamster (Rodhain), la splénectomie des animaux infestés transforme le paludisme bénin chronique en paludisme mortel. Un comportement analogue s'observe dans la *Bartonellose* de la Souris.

Dans certaines infestations parasitaires, la leucopénie est la règle (*Leishmaniose*, *Kala-azar*); dans d'autres la mononucléose

est habituelle (Paludisme), dans d'autres, enfin, c'est l'éosinophilie (Helminthiases).

L'IMMUNITÉ HUMORALE, dans les infestations parasitaires comme dans les infections bactériennes est conférée par un immun anticorps (immunité acquise) dont la formation est suscitée par les antigènes parasitaires, d'une part, et, éventuellement, d'autre part, par des « anticorps normaux » (immunité naturelle).

Comme dans l'immunité conférée par les agents bactériens, les immunsérums élaborés dans les infestations parasitaires offrent des propriétés : 1° *agglutinantes*, révélées par l'action agglutinante du sérum de rats guéris de Trypanosomiase à *T. lewisi* sur *T. lewisi*, formation de rosaces de parasites agglutinés [Laveran et Mesnil (1)] ; 2° *lytiques*, révélées par l'action lytique du sérum de rat immunisé sur *T. lewisi* ; 3° *précipitantes*, établies par la floculation et la précipitation du liquide hydatique en présence du sérum d'un malade atteint d'échinococcose (Fleig et Lisbonne) ; 4° *opsonisantes*, démontrées par l'adhérence des Trypanosomes aux leucocytes et aux globulins [Mesnil et Laveran (2)] ; 5° *fixatrices du complément*, comme le montre la possibilité de réaliser la fixation du complément dans de nombreuses infestations parasitaires et, en particulier, dans les bilharzioses, les filarioses, les distomatoses ; 6° *anaphylactisantes* ; 7° *sensibilisantes*, *allergisantes* (réagines), (filarioses, distomatoses).

Les notions relatives aux propriétés, à la constitution et aux réactions des anticorps (3) et des antigènes (4) sont applicables à l'immunité des infestations parasitaires et nous n'y insisterons pas. Il convient, cependant, de signaler la fréquence des antigènes communs (opposés aux antigènes distinctifs, comme dans le groupe coli-typhique, par exemple) ; en effet, dans les infestations parasitaires, les réactions immunologiques de groupe (groupe nosologique des distomatoses, groupe nosologique des filarioses) ne sont pas rares.

(1) Ces sérums, formation de rosaces de parasites agglutinés, sont, généralement, trop pauvres en anticorps immunisants pour conférer un état réfractaire et pour être utilisés en thérapeutique.

(2) On désigne sous le nom de réaction de Rickenberg l'agglutination autour des trypanosomes, des hémotoblastes du sang, chez des malades atteints d'une trypanosomiase homologue.

(3) Les anticorps se soudant aux antigènes, ils modifieraient les rapports d'adhésion avec le liquide ambiant et tendraient à les insolubiliser en les rendant floculables par les électrolytes (spécificité).

(4) Est antigène toute substance dont l'introduction dans l'organisme provoque la formation d'anticorps.

FACTEURS AUXILIAIRES DE L'IMMUNITÉ.

Le rôle actif du Lysosyme (Fleming et Allison, 1922) présent dans les larmes, les sécrétions cutanées, les mucosités, n'intervient pas dans des infestations parasitaires dont les éléments infectieux, éléments qui sont, le plus souvent, transmis par la piqure ou par les actions traumatiques d'invertébrés vecteurs, dont la nature, les dimensions et le degré d'organisation (larves d'Helminthes) sont hors des atteintes d'une action lytique qui ne s'exerce que sur des microbes banaux ou peu virulents.

La fièvre, envisagée en tant que réaction de défense utile contre les infections semble agir de façon favorable sur certaines infestations parasitaires ; il en est ainsi, en particulier, pour le spirochète de la syphilis (pyrétothérapie, malarithérapie) et pour certains helminthes intestinaux (Ascarides) qui peuvent être expulsés en corrélation avec l'hyperthermie.

L'inflammation tissulaire, qui permet l'active émigration des leucocytes et l'exsudation plasmatique et qui tend à circonscrire l'infection microbienne dans un foyer limité et à s'opposer à la dissémination des germes et qui favorise la formation des anticorps, est un facteur auxiliaire d'immunité dans les infestations parasitaires. Dans ces infestations, l'inflammation ne revêt un aspect aigu qu'en cas de surinfection bactérienne des lésions, son processus habituel est l'inflammation subaiguë ou chronique avec infiltration discrète, accompagnée de réactions métaplasiques, hyperplasiques ou conjonctives (cirrhoses). Ces processus constituent, sans doute, des entraves au développement de la maladie parasitaire, mais par un mécanisme plus en rapport avec les réactions anatomo-pathologiques qu'avec des phénomènes d'immunité. Il est, cependant, probable que la formation des productions réactionnelles est corrélatrice à la formation d'anticorps parasitaires.

Le rôle de la rate dans le maintien de l'état de prémunition ressort nettement des expériences montrant que l'ablation de la rate chez des animaux prémunis, fait disparaître l'immunité tolérance et réapparaître une maladie parasitaire grave ; il en est ainsi dans l'infection du rat par *Plasmodium berghei* qui évolue normalement vers un état de prémunition, mais qui prend un caractère mortel si le rat prémuni subit une splénectomie.

Bien que nos connaissances sur le rôle protecteur des facteurs hormonaux et des carences vis-à-vis des infestations parasitaires ne soient pas d'une précision satisfaisante, il apparaît comme un fait général que chez les populations sous-alimentées et carencées, le mauvais terrain favorise la greffe et la gravité évolutive des infestations parasitaires.

RÉACTIONS D'IMMUNITÉ ET DE SENSIBILISATION DANS LES INFESTATIONS PARASITAIRES.

La présence d'anticorps spécifiques ou d'anticorps de groupe correspondant à des antigènes appropriés, dans les infestations parasitaires, permet d'établir le diagnostic sérologique d'un certain nombre de parasitoses par la réaction de fixation du complément et par les réactions d'hypersensibilité cutanée.

La notion de diagnostic sérologique des maladies parasitaires (5) peut revêtir un intérêt pratique : 1° dans les infestations parasitaires frustes, infestations dans lesquelles les parasites sont peu nombreux ou absents dans les produits pathologiques accessibles à l'investigation (Filariose à *Loa loa*, Trichinose, Distomatose hépatique). 2° A la période d'invasion de certaines maladies parasitaires, période au cours de laquelle les parasites adultes n'ont pas encore atteint le lieu d'habitat où ils peuvent être dépistés (phase toxémique de la bilharziose et de la distomatose hépatique). 3° Lorsque les parasites siègent dans un viscère difficilement accessible à l'investigation (kyste hydatique viscéral, cysticercose cérébrale, trichinose).

La réaction de fixation du complément, la réaction de précipitation, les réactions d'hypersensibilité cutanée et les oculoréactions ont été recherchées avec succès dans un certain nombre d'infestations parasitaires à Protozoaires, à Helminthes, à Arthropodes et à Champignons dont nous donnons ici un sommaire.

RÉACTION DE FIXATION DU COMPLÉMENT. — *Maladies à protozoaires* : Amibiase, Trypanosomias (T. *equiperdum*, T. *brucei*, *Schizotrypanum cruzi*). Leishmanioses (L. *tropica*, L. *infantum*). Paludisme du singe (P. *knowlesi*) et des oiseaux (P. *lophuræ*). Syphilis.

Helminthiases : Bilharziose, Distomatose hépatique, Echinococcose, Téniasis à T. *saginata*, T. *chode* (réaction de groupe), T. *pisiformis* du lapin, Ascaridiose, Trichinose, Filariose, Myases cutanées.

Mycoses : Actinomycose, Sporotrichose, Teignes.

Sur le plan pratique, la recherche de ces réactions sérologiques ne doit être retenue que dans les infestations dans lesquelles elles s'imposent du fait : 1° du pourcentage élevé des réponses positives qu'elles peuvent donner chez des sujets infectés (60 à 70 p. 100, au moins) ; 2° de leur utilité dans l'établissement du diagnostic d'une maladie ou de sa surveillance, de son évolution et de sa

(5) Maladies dans lesquelles le diagnostic de certitude se fonde habituellement sur la constatation microscopique ou macroscopique des éléments parasitaires dans les produits pathologiques.

guérison, ceci, naturellement, dans le cas où les éléments parasitaires sont rares ou ne peuvent être mis en évidence par les techniques habituelles.

Les infestations parasitaires dans lesquelles les réactions d'immunité s'avèrent utiles sont les suivantes :

Syphilis, Leishmanioses, Bilharzioses, Distomatose hépatique. Maladie hydatique, Cysticercoses viscérales, Filarioses, Trichinoses, Actinomycose, Sporotrichose, Trichophyties.

Les réactions d'immunité et de sensibilisation dans les infestations parasitaires ne sont qu'exceptionnellement des réactions étroitement spécifiques, elles caractérisent généralement un groupe zoologique plus ou moins large, ce sont des *réactions de groupe*. Pour ne prendre que deux exemples de cette notion, rappelons : 1° que les antigènes préparés à partir d'extraits de *Fasciola hepatica* donnent des réactions positives, non seulement dans les distomatoses hépatiques, mais aussi dans les bilharzioses à *Schistosoma mansoni*, *S. hæmatobium* et *S. japonicum* ; 2° que les antigènes à base de *Dirofilaria immitis*, filaire du chien, procurent des réponses positives dans les filarioses à *Wuchereria bancrofti* (filariose lymphatique), à *Loa loa* (œdèmes fugaces de Calabar), à *Onchocerca volvulus* (Onchocercose) et à *Dracunculus medinensis* (Dracunculose ou Filariose de Médine).

Des antigènes bactériens paraissent, d'autre part, capables de donner des réactions immunologiques positives dans certaines infestations à Protozoaires ; c'est ainsi que des antigènes préparés avec le bacille de la fièvre et avec le bacille tuberculeux donnent une réaction de fixation du complément positive dans la leishmaniose à *Leishmania tropica* (Witebsky, Klingenstein et Kuhn, 1945) [6].

On conçoit toute l'importance de la notion de réaction de groupe dans l'interprétation d'épreuves et dans l'appréciation de la valeur diagnostique de celles-ci.

RÉACTION DE PRÉCIPITATION (PRÉCIPITO-DIAGNOSTIC). — La précipitation du sérum d'un malade atteint d'une infestation parasitaire par addition à ce sérum d'un extrait du parasite correspondant peut constituer une méthode de diagnostic se rattachant aux réactions d'immunité.

Isaac et von der Velden (1904) ont constaté, les premiers, la présence de précipitines spécifiques dans le sang d'individus soumis à des injections d'extrait de *Dibotriocephalus latus*. Weinberg, en 1907, a mis en évidence que le sérum d'un certain nombre de chevaux atteints de Strongylose (Sclérostomose) donnait un précipité en présence d'extraits de strongles (Sclérostomes) ; cependant, c'est à Fleig et Lisbonne (1907) [7] que l'on

doit l'application au diagnostic du kyste hydatique, de la précipitation du sérum d'un certain nombre de malades atteints d'hydatidose, lorsque ce sérum est mis en présence de liquide hydatique. Le précipito-diagnostic de la maladie hydatique, employé par Welsch, Chapman et Weinberg, puis par Fewley (1923) ne donne de résultats positifs que dans 33 p. 100 des cas au maximum; le précipité pourrait même se produire avec le sérum de sujets sains (Welsch, Chapman et Storey, Weinberg).

La réaction peut s'obtenir en additionnant un volume du sérum du malade présumé atteint, d'un volume de liquide hydatique et en plaçant le mélange à 37° pendant douze à vingt-quatre heures. On observe, dans les cas positifs, l'apparition d'un précipité floconneux.

Certains auteurs utilisent, pour la recherche de cette réaction, une série de tubes à essai contenant, chacun, 1 ml de sérum du malade, auxquels ils ajoutent un nombre croissant de gouttes (V, X, XV, XX gouttes, par exemple); la lecture est faite dans les mêmes conditions que précédemment.

Cette méthode est simple, mais elle donne des résultats très inférieurs à ceux que procure la réaction de fixation du complément et aux réactions d'hypersensibilité dans l'échinococcose.

En dehors de la maladie hydatique, la réaction de précipitation n'est pas utilisée.

RÉACTION D'HYPERSENSIBILITÉ CUTANÉE. — D'une manière générale, les réactions d'hypersensibilité apparaissent comme plus pratiques que la réaction de fixation du complément; la sensibilité n'est pas inférieure à celle de la réaction de fixation, la fréquence des réponses positives est comparable à celle obtenue avec la réaction de fixation du complément, et, enfin, elles sont beaucoup plus faciles à pratiquer que cette dernière; tout médecin approvisionné en antigènes appropriés est à même de procéder à la recherche de la réaction d'hypersensibilité cutanée.

Dans la recherche de l'hypersensibilité cutanée, on peut utiliser soit l'intradermo-réaction (injection intradermique), soit la cuti-réaction (scarifications cutanées).

Les infestations parasitaires dans lesquelles la réaction d'hypersensibilité cutanée est usuelle sont : les bilharzioses, la distomatose hépatique, la maladie hydatique, les cysticercoses viscérales, les filarioses, la trichinose, les trichophyties, les mycoses cutanées. Aux réactions d'hypersensibilité, on doit rattacher l'intrapalpébro-réaction (Weinberg), parfois utilisée en médecine vétérinaire, qui consiste à instiller, dans le cul-de-sac oculo-palpébral, 1 goutte d'antigène pour susciter, éventuellement (réaction positive), une inflammation conjonctivale.

TECHNIQUE D'APPLICATION, AUX INFESTATIONS PARASITAIRES, DE LA RÉACTION DE FIXATION DU COMPLÉMENT ET DES RÉACTIONS D'HYPERSENSIBILITÉ CUTANÉE.

Les techniques utilisées dans la recherche des réactions d'immunité dans les infestations parasitaires ne sont pas différentes de celles qui sont appliquées dans les infections bactériennes ; cependant, certaines modalités pratiques et certaines précautions à prendre sont liées à la nature des antigènes : préparation des antigènes, pouvoir anticomplémentaire, pouvoir hémolytique, mode de titrage des antigènes, dosage des anticorps, action phlogène sur le derme, en particulier, sont à considérer.

Dans ce but, nous passerons ici en revue les techniques utilisées dans notre Service.

RÉACTION DE FIXATION DU COMPLÉMENT. — *Préparation des antigènes.* — Les parasites récoltés sont lavés à l'eau physiologique pour les débarrasser, éventuellement, des souillures qui les accompagnent, puis ils sont desséchés dans le *plus bref délai possible*, dans des cuvettes en verre ou en porcelaine, tarées, sous la cloche à vide sulfurique, à l'étuve à 37°, ou par liophilisation à — 15°. La matière sèche obtenue est broyée au mortier, pesée et mise à macérer à 37°, pendant vingt-quatre heures au moins et vingt jours au plus, dans l'alcool absolu dans la proportion de 1 à 10 g de poudre dans 100 ml d'alcool suivant les antigènes ; on a soin d'agiter le flacon de temps à autre. Le temps de macération écoulé, on filtre sur papier, on évapore au bain-marie (45°) jusqu'à l'apparition d'un trouble (réduction d'un tiers en général) et on ramène à la moitié du volume initial en ajoutant de l'alcool absolu.

La concentration en antigène varie suivant l'espèce parasite qui la fournit ; dans le cas de la préparation de l'antigène filarien, par exemple, le taux initial de la macération est de 1 p. 100, et le taux final de 1 p. 50. Cet antigène à 1 p. 50 se montre actif à la dilution de 1 p. 20 (1 à 1 000) dans l'eau physiologique.

La technique décrite ci-dessus est la technique usuelle, la préparation des antigènes de Protozoaires (antigènes amibien, plasmodien, leishmanien) est comparable mais elle nécessite des méthodes de récolte des microorganismes appropriées à leurs dimensions et à leur habitat. *La préparation et le titrage du sérum hémolytique et de l'alexine* sont faits suivant les méthodes classiques (dose normale de sérum hémolytique : dix fois la dose minima hémolytique ; détermination de la dose minima active d'alexine).

Le titrage du pouvoir anticomplémentaire de l'antigène (absorbant ou empêchant) est une considération importante ; il est

variable suivant les espèces et, parfois, suivant les échantillons récoltés et il peut être de plusieurs doses minima actives d'alexine.

On opère ce titrage en faisant des dilutions croissantes d'antigène dans l'eau physiologique : 1/5, 1/10, 1/20, etc. On prend 1 cm³ de chacune de ces dilutions qu'on met en contact avec des doses croissantes d'alexine à partir de la dose minima : 0,2, 0,4, 0,6, etc. On complète un volume de 2,5 cm³ avec de l'eau physiologique, on agite et on place pendant une heure à l'étuve à 37°. Après ce temps, on ajoute le système hémolytique (1 goutte d'émulsion de G. R. de mouton et 10 doses minima de sérum hémolytique), on agite, on reporte à l'étuve à 37° et, après une demi-heure, on lit l'épreuve. On prend la dilution de l'antigène qui n'a pas empêché l'hémolyse : la dilution à 1 p. 20, par exemple.

Le pouvoir anticomplémentaire d'un antigène doit être contrôlé de temps en temps, car il tend à augmenter après un certain délai de conservation.

Le titrage de la valeur d'un antigène peut être intéressant à établir dans le but de doser avec précision les anticorps parasitaires dans le sérum des sujets infectés. Il consiste à apprécier quel est le nombre de doses d'alexine qui sont déviées par un volume déterminé (1 cm³ par exemple) d'antigène.

Pour cela, on fait agir une dose fixe d'antigène (1 cm³ de dilutions à 1 p. 100 d'antigène distomien, par exemple) sur des doses croissantes d'alexine (à partir de la dose minima active, en présence d'un sérum connu contenant des anticorps correspondants. On peut opérer suivant le dispositif ci-dessous :

	TUBES D'ÉPREUVE					TÉMOINS	
	1	2	3	4	5	6	7
Dilution antigène à 1 p. 400.	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml	
Sérum inactivé chauffé à 56°							
30 minutes	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	
Alexine, dose minima	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5		
Eau physiologique	0,9 ml	0,8 ml	0,7 ml	0,6 ml	0,5 ml	1,5 ml	2 ml
Epreuve de 3/4 d'heure à 37°.							
Addition d'un système hémolytique : épreuve d'une demi-heure.							

A la lecture du résultat, si 1 ml, par exemple, de la dilution d'antigène à 1 p. 100 (0,01 cm³ d'antigène) dévie 2 unités d'alexine, c'est que 1 ml d'antigène pur dévie 200 unités d'alexine.

DISPOSITION DE LA RÉACTION DE FIXATION DU COMPLÉMENT. — La technique de Calmette et Massol convient particulièrement bien en raison de la possibilité qu'elle procure en partant d'un antigène défini, de donner non seulement le sens de la réaction mais aussi de titrer les anticorps (nombre des doses minima actives d'alexine déviées contenues dans le sérum d'un malade). L'Institut Pasteur est en mesure de fournir les antigènes suivants, de valeur antigénique et de pouvoir anticomplémentaire titrés :

Antigène distomien, antigène bilharzien, antigène hydatique, antigène filarien, antigène trichinien, antigène ascaridien. Ces antigènes sont généralement actifs à 1 p. 20 ou à 1 p. 30 (1 goutte d'antigène pour XIX gouttes ou XXIX gouttes d'eau physiologique).

La disposition de la réaction s'établit d'après le tableau suivant, appliqué, par exemple, au diagnostic sérologique de la bilharziose à *S. hæmatobium*.

TUBES	I 60 minutes à 37°				II 30 minutes à 37°	
	Sérum chauffé	Antigène bilharzien 0,5 dilué à 1/20	Alexine diluée d.m. : 0,2	E.P.	Emulsion de G.R. en goutte	Sérum hémolytique 10 doses minima
1	0,5	0,5	0,2	1,3	1	0,1
2	0,5	0,5	0,4	1,1	1	0,1
3	0,5	0,5	0,6	0,9	1	0,1
4	0,5	0,5	0,8	0,7	1	0,1
5	0,5	0,5	1	0,5	1	0,1
Témoin sérum :						
S ¹	0,5		0,2	1,8	1	0,1
S ²	0,5		0,4	1,6	1	0,1
S ³	0,5		0,6	1,4	1	0,1
Témoin antigène :						
A ¹		0,5	0,2	1,8	1	0,1
A ²		0,5	0,4	1,6	1	0,1
A ³		0,5	0,6	1,4	1	0,1

Les tubes d'épreuve 1, 2, 3, 4, 5 indiquent si la réaction est positive et, dans cette éventualité, elle fournit le nombre d'unités d'alexine déviées.

Les tubes témoins S¹, S², S³ indiquent le nombre d'unités d'alexine qui pourraient être déviées éventuellement par le

sérum. Les tubes témoins A¹, A², A³ indiquent le nombre d'unités d'alexine qui pourraient être déviées éventuellement par l'antigène.

Dans le cas où ni le sérum, ni l'antigène ne dévient d'alexine, la quantité d'anticorps contenus dans le sérum (série 1, 2, 3, 4, 5) s'exprime par le rapport $\frac{N}{V}$ dans lequel N représente le nombre des doses d'alexine déviées (4 doses minimum, par exemple) et V le volume de sérum utilisé (0,5 ml) ; soit, dans le cas considéré, une quantité d'anticorps par centimètre cube correspondant à 8 doses d'alexine déviées.

Si le sérum ou l'antigène, ou, encore, tous les deux à la fois, dévient une fraction d'alexine, le chiffre N sera représenté par la différence entre le nombre total des doses d'alexine déviées dans la série 1, 2, 3, 4, 5 et le nombre des doses d'alexine déviées dans les séries S¹, S², S³ ou A¹, A², A³.

Dans les infestations parasitaires qui suscitent habituellement un état d'immunité relative, la quantité d'anticorps présente dans le sérum est relativement faible et ne dépasse généralement pas l'équivalent de 10 cm³, 20 doses minima actives d'alexine par millilitre (6).

La réaction de déviation du complément suivant la *technique dite rapide au sérum non chauffé* (procédé de Hecht-Levaditi-Latapie) peut être utilisée, mais elle nécessite, au préalable, le titrage du pouvoir anticomplémentaire de l'antigène et de l'index hémolytique du sérum et ne permet pas le dosage des anticorps présents dans le sérum ; elle ne saurait donc se substituer à la technique de Calmette et Massol qui fournit directement ces données. La disposition de la réaction est schématisée dans le tableau suivant :

RÉACTION DE DÉVIATION DU COMPLÉMENT PAR LE PROCÉDÉ RAPIDE AU SÉRUM NON CHAUFFÉ (1)			
Tubes	Sérum à examiner (Index hémolytique : 0,1 ml)	Antigène	E. P.
1.	0,1	0,1	2,3
2.	0,1	0,2	2,2
3.	0,1		2,4

(1) La réaction comporte la détermination préalable du pouvoir anti-complémentaire de l'antigène utilisé.

(6) Dans l'ascaridiose du cheval, le chiffre maximum de 8 doses minima a été noté (R. Deschiens et L. Nicol, 1941 [8]).

Etuvage à 37°, trois quarts d'heure.

Addition dans chaque tube 0,2 cm³ d'une émulsion de G. R. de mouton à 5 p. 100 (7). Etuvage à 37°, une demi-heure, lecture.

RÉACTIONS D'HYPERSENSIBILITÉ CUTANÉE. — Dans la pratique des réactions d'hypersensibilité, l'intradermo-réaction fournit les réponses les plus valables et les plus constantes et est seule appliquée ; c'est donc elle que nous étudierons.

PRÉPARATION DES ANTIGÈNES. — Les parasites frais prélevés sont lavés à l'eau physiologique, puis desséchés, dans le plus court délai possible, dans des cuvettes en verre ou en porcelaine qui ont été tarées. La dessiccation peut être conduite sous la cloche à vide sulfurique, à l'étuve à 37°, ou par lyophilisation à — 15°.

Le produit obtenu est détaché, broyé au mortier, pesé et mis à macérer dans l'eau physiologique à 37° pendant douze à vingt-quatre heures, à raison de 1 g de poudre de tissus parasitaires pour 100 ml d'E. P., et en agitant à plusieurs reprises.

La suspension ainsi recueillie est centrifugée vingt minutes à 3 000 tours-minute ; elle est additionnée de la quantité d'E. P. nécessaire pour obtenir un titre de 1 p. 500 en produits parasitaires. La solution obtenue est filtrée sur Zeitz ou sur bougie L³ pour assurer sa stérilisation, puis répartie en ampoules de 0,25 cm³ qui peuvent être stockées à — 15° et dont le pouvoir réactionnel se conserve pendant dix-huit mois au moins.

La plupart des antigènes sont utilisés au titre de 1 p. 500, c'est-à-dire tels qu'ils sont préparés dans les ampoules, mais ils peuvent être dilués au moment de l'emploi si l'on veut opérer avec de faibles concentrations (1 p. 5 000, 1 p. 10 000).

La validité des ampoules d'antigène conservées à la glacière (+ 4°) ou à la température du laboratoire est de trois mois au moins (8).

TECHNIQUE DE L'INTRADERMO-RÉACTION. — L'antigène est injecté dans le derme de la région deltoïdienne ou de la face antérieure de l'avant-bras, à la dose de 1/10 à 1/3 de millilitre avec une seringue de 1 cm³ et une aiguille fine à biseau court pour injections intradermiques, de manière à obtenir une boule d'œdème de la grosseur d'une lentille (5 à 6 mm de diamètre).

(7) En se plaçant dans le cas où 0,1 ml de sérum hémolyserait 0,3 ml d'émulsion de globules de mouton à 5 p. 100.

(8) L'Institut Pasteur prépare les antigènes parasitaires suivants, qui peuvent être fournis sur demande : antigène distomien, antigène bilharzien, antigène hydatique, antigène filarien, antigène trichinien, antigène ascaridien, antigène amibien.

La réaction positive est le plus souvent du type précoce (distomatose, bilharziose, maladie hydatique, filariose, ascaridiose), elle apparaît au point d'injection en moins d'une demi-heure (parfois en cinq minutes); elle consiste en un placard ortié circulaire, à contours polycycliques de 0,06 à 3 cm de diamètre entouré d'une auréole érythémateuse. Le placard ortié et l'érythème disparaissent en une à quatre heures, mais une infiltration de la peau peut persister pendant six à vingt-quatre heures.

Chez les personnes sensibles à diverses protéïdes ou atteintes de dermographisme, on peut observer de fausses réactions se bornant à un petit placard ortié s'effaçant en quelques minutes (9).

Dans certains cas (trichinose, maladie hydatique), la réaction peut affecter un type tardif et n'apparaît qu'entre trois et douze heures après l'injection; l'élément réactionnel consiste alors, le plus souvent, en un érythème rouge bistre à contours circulaires, accompagné d'un œdème dermique et de chaleur locale.

Les réactions d'hypersensibilité cutanée positives sont habituellement notées dans 60 à 80 p. 100 des cas de distomatose, de bilharziose, de maladie hydatique, de filariose et de trichinose.

CONCLUSIONS.

L'immunité observée dans les infestations parasitaires est le plus souvent une immunité relative, une prémunition. La prémunition ne se sépare pas de l'immunité, elle n'en est qu'un aspect particulier. Tous les termes de passage entre l'état réfractaire et la réceptivité peuvent exister dans l'immunité parasitaire.

L'immunité parasitaire peut être :

a) naturelle (état réfractaire du lapin adulte au paludisme des rongeurs à *P. berghei*) ;

b) acquise, elle est alors complète (paludisme à *P. gallinaceum* de la poule, trypanosomiase à *S. cruzi*) ou incomplète (bilharziose à *S. hæmatobium* et à *S. mansoni*) ;

c) provoquée : prémunition par inoculation d'un vaccin vivant (piroplasmoses à *Babesia bovis*) ou d'un antigène tué (paludisme du singe à *P. knowlesi*).

L'immunité passive, résultant de l'injection de sérum d'un sujet immun à un sujet neuf dans le but de le rendre réfractaire ou de le guérir, n'intervient pratiquement pas dans la thérapeutique des infestations parasitaires.

Les anticorps immunisants ou sensibilisants observés dans les

(9) L'utilisation d'ampoules témoins préparées avec le véhicule salin, seul de l'antigène correspondant et injecté conjointement à celui-ci, permet de dépister un nombre important de fausses réactions.

parasites sont, le plus souvent, hétérologues, dans le cadre d'espèces et de genres voisins, ce qui confère aux réactions d'immunité parasitaires un caractère de groupe.

Les facteurs de l'immunité dans les infestations parasitaires sont :

1° La phagocytose qui s'exerce plus par les macrophages, les histiocytes et les éléments du système réticulo-endothélial que par les polynucléaires et les lymphocytes ;

2° La formation d'immun anticorps ;

3° Les propriétés agglutinantes (trypanosomiasés), lytiques (trypanosomiasé à *T. lewisi*), précipitantes (échinococcoses), opsonisantes, fixatrices du complément, anaphylactisantes et sensibilisantes (helminthiasés) des immun sérums ;

4° L'inflammation tissulaire du type subaigu chronique (cirrhoses parasitaires).

La présence d'anticorps spécifiques ou d'anticorps de groupe correspondant à des antigènes appropriés permet dans les infestations parasitaires de pratiquer un diagnostic sérologique d'un certain nombre de parasitoses (réaction de fixation du complément, réaction d'hypersensibilité). Ce diagnostic offre un intérêt pratique : 1° dans les infestations où les parasites siègent dans un viscère peu accessible ou inaccessible (cysticercose, kyste hydatique, trichinose) ; 2° à la période d'invasion de certaines maladies parasitaires (bilharzioses, distomatoses).

BIBLIOGRAPHIE

- [1] W. TRAGER. *J. Parasitol.*, 1939, **25**, 57 et 137.
- [2] E. BRUMPT et A.-G. CHABAUD. *Ann. Parasitol. hum. comp.*, 1947, **22**, 348. — A.-G. CHABAUD. *Ann. Parasitol. hum. comp.*, 1950, **25**, 474.
- [3] K. J. THOMSON, J. FREUND, H. E. SOMMER et A. W. WALTER. *Am. J. trop. Med.*, 1947, **27**, 79.
- [4] J. FREUND, K. J. THOMSON, H. E. SOMMER, A. W. WALTER et T. M. PISANI. *Am. J. trop. Med.*, 1948, **28**, 1.
- [5] R. N. T. FIENNES. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 1950, **44**, 42 ; *ibid.* 222.
- [6] WITEBSKY, KLINGENSTEIN et KUHN. *Indian Med. Gaz.*, 1945, **80**, 396.
- [7] L. FLEIG et N. LISBONNE. *Presse médicale*, 1907, 832.
- [8] R. DESCHIENS et L. NICOL. *C. R. Soc. Biol.*, 1941, **135**, 516.

BIOSYNTHÈSE INDUITE D'UN ENZYME PENDANT LE DÉVELOPPEMENT DES BACTÉRIOPHAGES CHEZ *ESCHERICHIA COLI* K 12 (*).

par Louis SIMINOVITCH et FRANÇOIS JACOB.

(Institut Pasteur, Service de Physiologie microbienne.)

INTRODUCTION.

L'infection d'*E. coli* B par un bactériophage « virulent » tel que T_2 ou ϕ_{11} entraîne de profondes modifications dans le métabolisme bactérien. La croissance des bactéries est arrêtée, ainsi que la synthèse des enzymes respiratoires et de l'acide ribonucléique [1, 2, 3].

Le développement du bactériophage chez les bactéries lysogènes ne provoque pas de changements aussi brutaux dans la synthèse des constituants bactériens. Ces bactériophages, qui permettent aux synthèses proprement bactériennes de se poursuivre, ont été appelés bactériophages « tempérés » [4].

Parmi les effets provoqués chez *E. coli* B par l'infection d'un phage virulent, Monod et Wollman [3] ont observé qu'après l'infection, ces bactéries ne pouvaient plus s'adapter à l'utilisation du lactose. Un *Pseudomonas pyocyanea* lysogène peut, par contre, s'adapter à l'utilisation du glucose après irradiation par un rayonnement U. V. qui provoque le développement des phages [5].

Nous nous sommes proposé d'étudier d'une manière plus précise la biosynthèse d'un enzyme adaptatif pendant le développement d'un bactériophage tempéré. La souche *E. coli* K 12 est lysogène et le développement du phage λ est provoqué par exposition des bactéries à de petites doses de rayons U. V. [6]. Chez ces mêmes bactéries, la biosynthèse d'une β -galactosidase peut être induite (1) par certains β -galactosides et, en particulier, par le lactose [7]. Dans ce mémoire, nous exposons des expé-

(*) Travail effectué avec l'aide d'une subvention du National Cancer Institute of the National Institutes of Health des Etats-Unis d'Amérique.

(1) Dans ce mémoire, le mot *induction* se rapporte exclusivement à la biosynthèse de l'enzyme.

riences relatives à la synthèse de la β -galactosidase pendant le développement du phage λ .

MATÉRIEL ET TECHNIQUES.

Souches bactériennes. — Nous avons utilisé deux souches d'*Escherichia coli* K 12 : une souche lysogène K 12 (λ) et une souche non lysogène K 12 S. Les conditions dans lesquelles la production de phages est déclenchée chez K 12 (λ) après irradiation par un rayonnement U. V. ont été décrites par Weigle et Delbrück [6].

La souche indicatrice utilisée pour le dosage des phages λ est la souche *E. coli* C.

Milieu. — Nous avons utilisé le milieu suivant : KH_2PO_4 , 13,6 g ; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 2 g ; $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, 0,2 g ; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0,01 g ; $\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$, 0,0005 g ; eau, 1 000 g ; KOH q. s. p. pH 7,0. Le glucose, le maltose et le lactose étaient stérilisés à part en solution concentrée et ajoutés au moment de l'emploi suivant les besoins.

La densité optique des suspensions bactériennes était mesurée dans un électrophotomètre de Meunier en lumière rouge. Les résultats sont exprimés en graduations du tambour de l'appareil. Pendant la phase exponentielle de la croissance, une unité correspond environ à $2 \cdot 10^6$ bactéries/ml.

L'irradiation était effectuée avec une lampe à vapeur de mercure, à haute tension et basse pression, qui produit approximativement une énergie de 500 ergs mm^{-2} , minute^{-1} , pour la longueur d'onde 2537 Å, à une distance de 100 cm. Les cultures étaient distribuées dans des boîtes de Petri de manière que l'épaisseur de liquide n'excède pas 2 mm. Elles étaient alors agitées pendant quatre-vingts secondes à 100 cm de la lampe. Dans ces conditions, plus de 95 p. 100 des bactéries produisent des phages. Après l'irradiation, toutes les manipulations étaient effectuées dans l'obscurité.

La β -galactosidase de *E. coli* a été bien étudiée par Cohn et Monod [8] et par Monod, Cohen-Bazire et Cohn [9] qui ont mis au point l'extraction et le dosage. Les activités sont mesurées sur des suspensions traitées au toluène en utilisant comme substrat le o-dinitrophényl-galactoside. La vitesse d'apparition du nitrophénol coloré est mesurée dans un spectrophotomètre de Beckman.

RÉSULTATS.

I. ADAPTATION A L'UTILISATION DU LACTOSE CHEZ LES BACTÉRIES K 12 (λ) PENDANT LE DÉVELOPPEMENT DU PHAGE. — On peut montrer que les bactéries K 12 (λ) s'adaptent à l'utilisation du lactose pendant le développement du phage λ . Une culture de K 12 (λ) arrêtée par épuisement d'une quantité limitée de glucose servant de seule source de carbone, est agitée pendant une heure à 37° C pour épuiser la majeure partie des réserves bactériennes. Cette suspension est divisée en deux parties dont l'une est soumise à un rayonnement U. V. et l'autre sert de témoin non

irradié. On suit la densité optique de chacune de ces suspensions après addition soit de glucose, soit de lactose.

Les résultats de cette expérience sont représentés sur la figure 1. Dans la suspension non irradiée, après addition de glucose (courbe 1), la croissance reprend exponentiellement. Après addition de lactose (courbe 3), la croissance ne reprend que

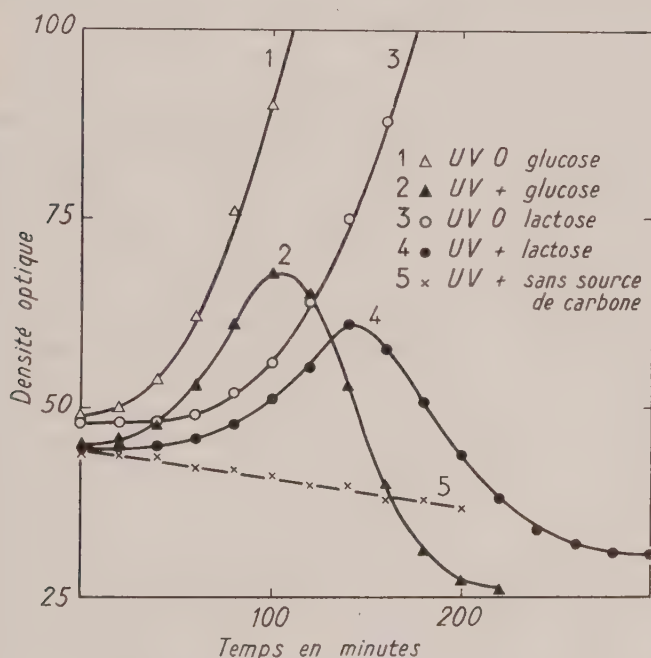


FIG. 1. — Adaptation à l'utilisation de lactose chez les bactéries K12 (λ) pendant le développement du phage λ .

Les bactéries sont cultivées dans une quantité limitée de glucose (1 p. 1 000). Après épuisement du glucose, elles sont agitées pendant une heure pour consommer la majorité des réserves bactériennes. La suspension est alors divisée en deux fractions. A l'une qui sert de témoin, on ajoute soit du glucose (courbe 1), soit du lactose (courbe 3). L'autre est irradiée et on ajoute soit du glucose (courbe 2), soit du lactose (courbe 4). La courbe 5 correspond à la fraction irradiée puis agitée sans source de carbone. En abscisse : le temps en minutes. En ordonnée : la densité optique.

cinquante minutes plus tard, et ce délai correspond à la période nécessaire à l'adaptation. Dans la suspension irradiée, la fraction ayant reçu du glucose (courbe 2) reprend sa croissance dès l'addition du sucre, puis la culture se lyse après quatre-vingts minutes. La croissance de la fraction ayant reçu du lactose

(courbe 4) ne reprend qu'après une période d'adaptation de cinquante minutes environ et se poursuit ensuite jusqu'à la cent trentième minute, moment où la lyse se produit. En glucose et en lactose, le rendement moyen en phages libérés par la lyse est comparable.

Cette expérience montre donc que, même après que le développement du phage λ a été déclenché par le rayonnement U. V., les bactéries K 12 (λ) sont capables de s'adapter à l'utilisation du lactose.

II. BIOSYNTHÈSE INDUITE DE LA β -GALACTOSIDASE PAR LES BACTÉRIES K 12 (λ) IRRADIÉES. — Dans les expériences de Monod et Wollman, ainsi que dans l'expérience précédente, le lactose sert à la fois d'inducteur et de source de carbone. On sait maintenant [10] que pour étudier d'une manière plus précise la synthèse de la β -galactosidase, il est préférable d'opérer dans des « conditions de gratuité », c'est-à-dire dans des conditions où la source de carbone est différente de l'inducteur. Dans les expériences qui vont être décrites, les cultures ont été faites dans un milieu synthétique où le maltose sert de source de carbone et où le lactose n'a été ajouté que comme inducteur.

Une culture de K 12 (λ) en voie de croissance exponentielle sur milieu maltosé a été divisée en deux fractions. L'une de ces fractions a reçu du lactose et l'on a mesuré la vitesse de synthèse de la β -galactosidase. L'autre fraction a été irradiée par le rayonnement U. V. et agitée à 37° (temps 0). A des temps variables, du lactose a été ajouté à des échantillons prélevés sur cette culture, et l'on a mesuré le taux de synthèse de l'enzyme dans chacune de ces suspensions. On a également suivi la densité optique, et, après dilution, on a mesuré l'apparition des phages libérés par la lyse ainsi que celle des phages mûrs intrabactériens en utilisant la technique de Doermann [11] au cyanure de potassium. Les résultats de cette expérience sont représentés sur la figure 2.

On voit que la densité optique de la suspension irradiée (courbe 1) augmente pendant soixante-dix minutes, puis que les bactéries se lysent en libérant des phages (courbe 3). Les premiers phages intracellulaires apparaissent vingt minutes avant la fin de la période latente (courbe 2). L'addition de lactose à la suspension non irradiée (courbe A) induit une synthèse rapide de la β -galactosidase. L'addition de lactose après l'irradiation permet également la synthèse de la β -galactosidase (courbe B). Cette synthèse se poursuit pendant toute la durée de la période latente, même après l'apparition des premiers phages intracellulaires, et ne cesse que vers la quatre-vingt-dixième minute.

Quel que soit le moment auquel le lactose a été ajouté au

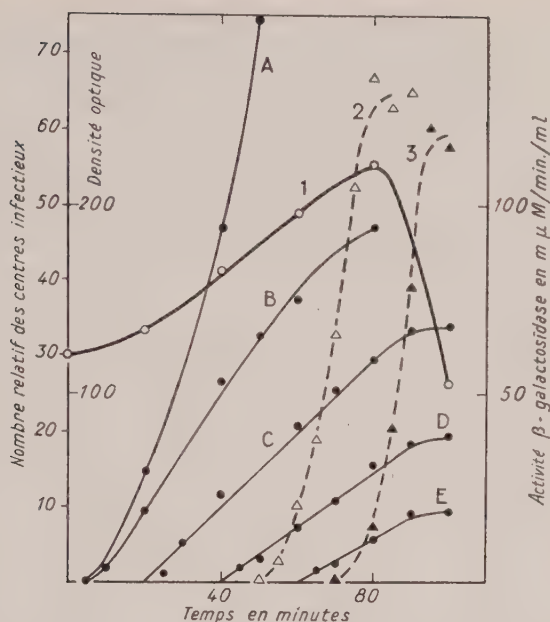


FIG. 2. — Synthèse de la β -galactosidase chez les bactéries K12 (λ) irradiées ou non.

Les bactéries sont cultivées sur du milieu synthétique contenant 3 p. 1 000 de maltose : 1° Une fraction de cette culture, qui sert de témoin non irradié, est diluée dans du milieu neuf contenant 3 p. 1 000 de maltose et 2 p. 1 000 de lactose. Cette suspension est agitée à 37° et l'on suit, en fonction du temps, l'évolution de la densité optique et la teneur en β -galactosidase. 2° Une autre fraction de la culture est irradiée par le rayonnement U.V., puis diluée dans du milieu neuf contenant 3 p. 1 000 de maltose. La suspension est agitée dans l'obscurité à 37°. A zéro, vingt, quarante et soixante minutes, on prélève des échantillons auxquels on ajoute 2 p. 1 000 de lactose. Toutes ces suspensions sont agitées à 37° et l'on suit sur chaque fiole l'évolution de la densité optique et la teneur en β -galactosidase. 3° Un échantillon de la suspension irradiée est dilué 10^5 fois et agité à 37°. A temps variables, on étale des échantillons de cette suspension sur gélose avec la souche indicatrice pour mesurer le nombre de phages libérés par la lyse des bactéries. 4° Un échantillon de la suspension irradiée est dilué 10^2 fois et agité à 37°. A temps variables, des échantillons sont dilués au 1/10 dans une solution de KCN M/100 et laissés trente minutes à 37°. On dilue alors 10^2 fois et on étale sur gélose avec la souche indicatrice pour mesurer le nombre de phages intrabactériens. En ordonnée : la densité optique (courbe 1), l'activité de la β -galactosidase exprimée en $m\mu M/min./ml$ (courbe A pour la suspension non irradiée — courbes B, C, D et E pour la suspension irradiée ayant reçu du lactose à zéro, vingt, quarante et soixante minutes), le nombre relatif des centres infectieux apparus spontanément (courbe 3) et le nombre relatif des centres infectieux observés après traitement au KCN (courbe 2). En abscisse : le temps en minutes.

cours de la période latente (courbes B, C, D, E, inducteur ajouté à zéro, vingt, quarante et soixante minutes), les bactéries dans lesquelles le phage est en voie de développement sont encore capables de synthétiser la β -galactosidase. Ceci est vrai même lorsque la synthèse de l'enzyme a été induite à la soixantième minute, c'est-à-dire après l'apparition des premiers phages intrabactériens. La vitesse de synthèse de l'enzyme après l'irradiation de la culture de *E. coli* K 12 (λ) se fait à taux constant, et ce taux est d'autant plus faible que le lactose a été ajouté plus tard. Même lorsque le lactose a été ajouté aussitôt après

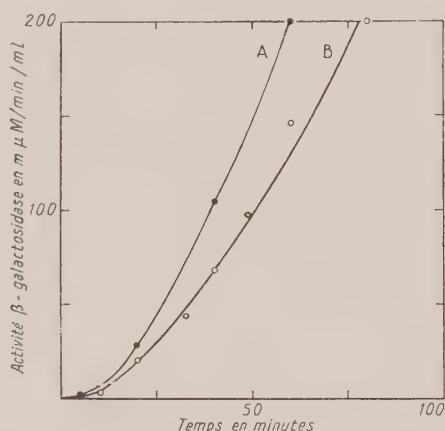


FIG. 3. — Synthèse de la β -galactosidase chez K12 S non lysogène.

La technique de l'expérience est semblable à celle décrite pour la figure 2. En ordonnée : l'activité de la β -galactosidase en m μ M/min/ml (courbe A, suspension non irradiée; courbe B, suspension irradiée). En abscisse : le temps en minutes.

l'irradiation (courbe B), la vitesse de synthèse de l'enzyme est inférieure à celle que l'on observe chez le témoin non irradié (courbe A).

Ces expériences établissent donc clairement que chez les bactéries K 12 (λ) irradiées, où le bactériophage est en voie de développement, on peut induire la synthèse d'un enzyme adaptatif tout au long de la période latente, et que cette synthèse se poursuit jusqu'à la lyse des bactéries.

III. BIOSYNTHESE INDUITE DE LA β -GALACTOSIDASE PAR LES BACTÉRIES K 12 S IRRADIÉES. — Il a été mentionné ci-dessus que la vitesse de synthèse de la β -galactosidase par une culture de K 12 (λ) irradiée, à laquelle l'inducteur a été ajouté aussitôt

après l'irradiation, est inférieure à la vitesse de synthèse de l'enzyme par une culture non irradiée. Il est difficile, dans le cas des bactéries lysogènes, de distinguer l'action directe du rayonnement sur la capacité de synthèse de la bactérie [12] et une inhibition due au développement du bactériophage. Pour essayer de dissocier les deux effets, nous avons utilisé la souche K 12 S, voisine de K 12 (λ), mais non lysogène, et nous avons mesuré l'inhibition apportée à la synthèse de la β -galactosidase par la dose de rayons U. V. qui, chez K 12 (λ), provoque le développement du phage.

Les détails expérimentaux sont les mêmes que ceux décrits pour la souche K 12 (λ). Les résultats d'une telle expérience sont représentés sur la figure 3, où l'on voit que la vitesse de synthèse de la β -galactosidase est diminuée par l'irradiation. Le rapport de cette vitesse à celle du témoin non irradié est de 0,8, alors que dans le cas des bactéries lysogènes ce rapport était de 0,5. La diminution est donc moins importante chez les bactéries K 12 S que chez les bactéries lysogènes K 12 (λ).

DISCUSSION.

Les résultats apportés par l'étude de la biosynthèse induite de la β -galactosidase illustrent parfaitement les différences observées pendant le développement du phage, d'une part chez les bactéries infectées par un phage virulent, d'autre part chez les bactéries lysogènes irradiées.

Les expériences de Monod et Wollman montraient que les bactéries *E. coli* B, infectées par le phage virulent φ_{11} ne pouvaient plus s'adapter à l'utilisation du lactose. Récemment, Benzer [13] a précisé, sur le même matériel, que l'infection par le phage de bactéries en voie d'adaptation bloque instantanément et complètement la synthèse de la β -galactosidase. L'enzyme déjà formé n'est pas détruit. Les résultats rapportés dans ce mémoire montrent que le développement du phage tempéré permet au contraire l'induction aussi bien que la poursuite de la synthèse d'une β -galactosidase adaptative pendant toute la durée du développement du phage.

Récemment, Monod, Pappenheimer et Cohen-Bazire [14] ont trouvé que la biosynthèse induite de la β -galactosidase chez *E. coli* était proportionnelle à l'augmentation de la croissance, c'est-à-dire aux synthèses générales de protoplasme bactérien. Si l'on porte l'activité de la β -galactosidase formée (ΔZ) en fonction de l'augmentation de densité optique (ΔB), on obtient une droite passant par l'origine. La représentation $\Delta Z/\Delta B$ permet donc de mesurer un « taux différentiel de synthèse ». Si l'on applique ce type de représentation aux résultats rapportés sur

les figures 2 et 3, en portant en ordonnée les accroissements d'activité de la β -galactosidase (ΔZ) et en abscisse l'accroissement de la densité optique (ΔB), on obtient également des droites passant par l'origine comme le montre la figure 4. Le rapport « taux différentiel de synthèse par les bactéries irradiées/taux différentiel de synthèse par les bactéries témoins »

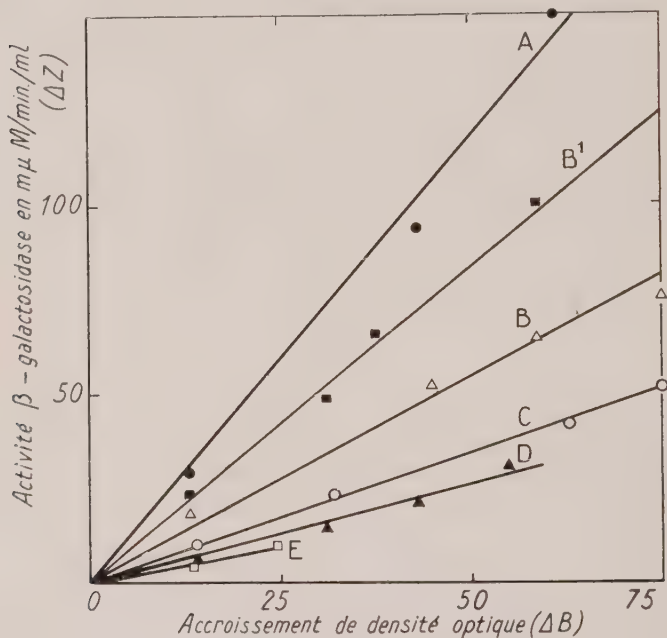


FIG. 4. — Taux différentiels de synthèse de la β -galactosidase chez K12 S et K12 (λ).

En ordonnée : l'accroissement de l'activité de la β -galactosidase (ΔZ). En abscisse : l'accroissement de la densité optique (ΔB). Courbe A : bactéries K12 (λ) et K12 S non irradiées. Courbe B¹ : bactéries K12 S irradiées. Courbes B, C, D et E : bactéries K12 (λ) irradiées, auxquelles on a ajouté du lactose à zéro, vingt, quarante et soixante minutes après l'irradiation.

est de 0,7 pour les bactéries non lysogènes et 0,4 pour les bactéries lysogènes.

Une même dose de rayons U. V. affecte donc moins profondément le taux de synthèse de la β -galactosidase chez les bactéries non lysogènes que chez les bactéries lysogènes. Cette différence semble pouvoir être attribuée au développement du phage λ . La courbe B de la figure 4 établit clairement que la synthèse de la β -galactosidase est plus touchée que les synthèses

bactériennes qui s'expriment par l'accroissement de la densité optique. On peut conclure que le développement d'un phage tempéré tel que λ affecte à des degrés différents les diverses synthèses bactériennes. Dans le cas des phages virulents qui bloquent complètement la croissance bactérienne, la représentation du « taux différentiel de synthèse » se résume à un point qui est l'origine.

Les résultats illustrés par les figures 2 et 4 montrent : 1° qu'après l'addition du lactose inducteur, la synthèse de l'enzyme par les bactéries K 12 (λ) irradiées s'effectue à vitesse constante jusqu'au moment de la lyse ; 2° que la vitesse de synthèse est d'autant plus faible que le lactose a été ajouté plus tard après l'irradiation. Etant donné qu'une fois l'induction déclenchée, la synthèse se poursuit à taux constant jusqu'à la lyse, comment expliquer que le taux dépende du temps écoulé entre l'irradiation et le moment où l'on ajoute l'inducteur ? Un phénomène analogue a été décrit pour la croissance d'une souche lysogène de *Pseudomonas pyocyanea* pendant le développement du phage [15]. Les bactéries qui reçoivent un « régime » de glucose suffisamment faible peuvent assurer le développement du phage sans présenter de croissance. Si l'on ajoute un excès de glucose pendant la période latente, la croissance bactérienne reprend jusqu'à la lyse, mais les bactéries présentent un taux de croissance d'autant plus faible que l'excès de glucose est ajouté plus tard après l'irradiation.

Pour rendre compte de la cinétique de la synthèse de la pénicilline par *Bacillus cereus*, Pollock [16] a été amené à faire l'hypothèse que cette synthèse comporte au moins deux étapes bien distinctes. L'une très rapide correspond à la fixation de la pénicilline par un récepteur qui, à son tour, induit à taux constant la formation de l'enzyme.

A la suite de considérations différentes, Monod et Cohn [10] ont également été amenés à envisager, pour les mécanismes impliqués dans la biosynthèse induite de la β -galactosidase par *E. coli*, la formation d'un « organisateur » qui gouverne la synthèse de l'enzyme.

Les résultats rapportés ci-dessus semblent être en accord avec ces hypothèses. La synthèse de l'enzyme impliquerait deux stades distincts dont le premier seulement serait affecté par le développement du phage. Une fois « l'organisateur » formé et la synthèse induite, celle-ci se poursuivrait à une vitesse constante, fonction de la quantité d'organisateur présente. A mesure que le développement du phage progresse, la quantité d'organisateur pouvant être formée diminue, ce qui implique que les vitesses de synthèse décroissent progressivement lorsque l'inducteur est ajouté plus tard.

RÉSUMÉ.

1° Après irradiation d'une culture de K 12 (λ) par un rayonnement U. V., les bactéries sont capables de s'adapter à l'utilisation du lactose comme seule source d'aliment carboné. Après une période de cinquante minutes, les bactéries poursuivent leur croissance. Elles se lysent après cent trente minutes en libérant des bactériophages.

2° Quand le lactose inducteur est ajouté à une culture de la souche K 12 (λ) immédiatement après l'irradiation, les bactéries synthétisent la β -galactosidase à une vitesse qui est de 50 p. 100 inférieure à celle d'une culture témoin non irradiée. Cette vitesse reste constante jusque vers la quatre-vingtième minute, c'est-à-dire presque jusqu'à la lyse des bactéries. Si l'inducteur est ajouté plus tard, au cours de la période latente, l'enzyme est encore synthétisé à taux constant, mais plus on tarde à ajouter l'inducteur, plus le taux de synthèse est réduit.

3° Après l'irradiation d'une culture de la souche non lysogène K 12 S, avec la dose d'U. V. qui sert à déclencher le développement du phage chez la souche lysogène, les bactéries peuvent synthétiser l'enzyme à une vitesse qui n'est que de 20 p. 100 inférieure à celle d'un témoin non irradié.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] S. S. COHEN et T. F. ANDERSON. *J. exp. Med.*, 1946, **84**, 511.
- [2] S. S. COHEN. *J. biol. Chem.*, 1948, **174**, 281.
- [3] J. MONOD et E. WOLLMAN. *Ces Annales*, 1947, **73**, 937.
- [4] L. SIMINOVITCH et S. M. RAPKINE. *C. R. Acad. Sci.*, 1951, **232**, 1603.
— *Biochim. Biophys. Acta*, 1952, **9**, 478-487.
- [5] F. JACOB. *C. R. Acad. Sci.*, 1951, **232**, 1780.
- [6] J. J. WEIGLE et M. DELBRÜCK. *J. Bact.*, 1951, **62**, 301.
- [7] J. LEDERBERG. *J. Bact.*, 1950, **60**, 381.
- [8] M. COHN et J. MONOD. *Biochim. Biophys. Acta*, 1951, **7**, 153.
- [9] J. MONOD, G. COHEN-BAZIRE et M. COHN. *Biochim. Biophys. Acta*, 1951, **7**, 585.
- [10] J. MONOD et M. COHN. *Adv. Enzymol.*, 1952, **13**, 67.
- [11] A. H. DOERMANN. *Carnegie Inst. Yearbook*, 1948, **47**, 176.
- [12] P. SWENSON et A. C. GIESE. *J. Cell. comp. Physiol.*, 1950, **36**, 369.
- [13] S. BENZER. Communication personnelle.
- [14] J. MONOD, A. M. PAPPENHEIMER et G. COHEN-BAZIRE. *Biochim. Biophys. Acta* (sous presse).
- [15] F. JACOB. *Ces Annales*, 1952, **82**, 578.
- [16] M. R. POLLOCK. *Symposium sur la Biogenèse des Protéines* (II^e Congrès International de Biochimie). Paris, 1952.

**QUELQUES OBSERVATIONS BIOLOGIQUES
ET EXPÉRIMENTALES
RECUEILLIES AU COURS DE L'ÉPIDÉMIE
DE POLIOMYÉLITE A MALMÖ EN 1949 (1)**

Par RAGNAR HUSS (Malmö), CARL KLING et GUNNAR NORLIN (Stockholm).

(Institut Bactériologique de l'Etat, Stockholm.)

La Suède a été, en 1949, éprouvée de nouveau par une vague de poliomyélite assez sérieuse, un total de 2 584 cas ayant été rapporté, comprenant les cas avec et sans paralysie. Les incidences poliomyélitiques ont été très inégalement réparties dans les différentes parties du pays. Sans entrer dans les détails, nous pouvons mentionner que les départements les plus frappés ont été ceux de Malmöhus, y compris la ville de Malmö, et de Kristianstad dans la province de Scanie (447 cas), Stockholm et son département (392 cas) et le département de Värmland (partie nord-ouest de Götaland) avec 215 cas. Dans le Norrland, partie septentrionale de la Suède, les incidences ont été rares (entre 17 et 48 cas).

Dans les trois plus grandes villes de la Suède, la morbidité a été, à Stockholm de 36,0, à Gotenbourg de 12,8 et à Malmö de 75,3 pour 100 000 habitants. La morbidité à Malmö a donc été deux fois plus élevée qu'à Stockholm et six fois plus élevée qu'à Gotenbourg. Considérant que les possibilités de contact inter-humain sont à peu près égales dans ces trois villes, on peut conclure qu'il a existé un facteur spécial de dispersion qui a agi à Malmö, mais non dans les deux autres villes.

Nous avons eu l'occasion de faire quelques observations biologiques et expérimentales au cours de l'épidémie de paralysie infantile survenue à Malmö en 1949. Nous voulons donner ici un compte rendu sommaire de ces observations.

Le premier cas de poliomyélite a été rapporté à Malmö le 12 juin, le dernier le 18 décembre. En tout, 138 incidences ont été enregistrées pendant ce laps de temps (83 cas avec paralysie,

1. Communication présentée sous une forme préliminaire par M. Kling à la troisième Conférence européenne de la Poliomyélite tenue à Amsterdam du 30 mai au 2 juin 1950.

55 cas sans paralysie et 2 cas mortels). Comme nous le montre la carte ci-dessous (fig. 1), la maladie s'est manifestée dans toutes les parties de la ville, cependant avec une fréquence un peu plus grande dans le centre. Nous n'avons pas encore eu le temps d'élucider la cause de cette augmentation de morbidité dans le centre, augmentation qu'il nous paraît cependant important d'étudier plus à fond.

Les 10 premiers cas de maladie que l'on a signalés entre le 12 juin et le 4 juillet ont été désignés sur la carte par une

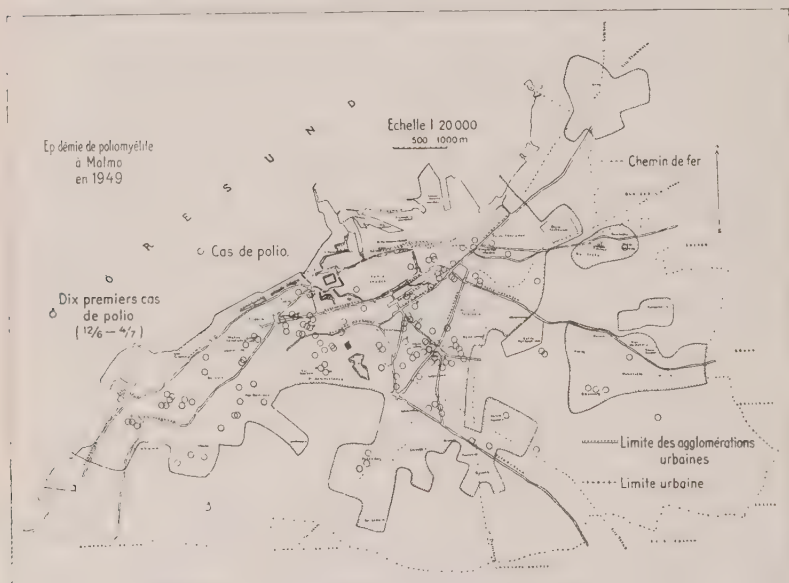


FIG. 1.

marque particulière. Nous remarquons immédiatement que ces incidences se sont manifestées dans différentes parties de la ville. L'enquête épidémiologique entreprise n'a pu déceler aucun contact entre les individus atteints, ni avant, ni après l'éclosion de la maladie.

En excluant les deux premiers cas survenus le 12 et le 21 juin, nous avons pu constater que les 5 cas suivants ont été diagnostiqués dans des quartiers différents entre le 25 et le 30 juin, c'est-à-dire dans l'espace de cinq jours. Cela nous a semblé indiquer qu'il s'est agi d'une infection simultanée provenant d'une source commune.

Etant donné que, d'après la conception actuelle, la poliomyélite

débute dans le tube digestif (du pharynx à l'intestin), nous avons d'abord recherché l'origine de la maladie dans certains aliments supposés être contaminés par le virus poliomyélitique, mais cette éventualité a bientôt dû être abandonnée. Pour cette raison, nous avons présumé que l'eau potable de la ville était le véhicule possible de l'ultragerme poliomyélitique.

Dans le but de vérifier l'exactitude de cette présomption, nous avons d'abord soumis l'eau potable de la ville de Malmö à un examen biologique approfondi à l'Institut Bactériologique de l'État, à Stockholm. Le 13 juillet, nous avons reçu 7 échantillons d'eau prélevés dans les immeubles où la poliomyélite avait fait son apparition. Après quelques jours de recherches, nous avons pu constater la présence de colibacilles dans 3 de ces 7 échantillons (de 2, 5, 11 coli par 100 ml). Des échantillons de la même origine expédiés par la suite contenaient aussi, dans un certain pourcentage, le colibacille et étaient riches en protozoaires (*Bodo caudatus* et des infusoires ciliés).

Nous pouvions donc conclure que l'eau potable de la ville de Malmö était devenue fécalement souillée et par conséquent hébergeait peut-être aussi l'ultragerme poliomyélitique. Il était donc nécessaire, de prime abord, de rechercher l'origine de cette souillure fécale. Pour rendre plus compréhensible la suite de nos recherches, il nous paraît indispensable d'expliquer la manière dont la ville de Malmö est alimentée en eau potable. C'est ce que montre l'esquisse (fig. 2) de l'établissement à Bulltofta, situé près de Malmö, où l'on purifie l'eau potable. Signalons qu'à Bulltofta se trouve aussi l'aérodrome construit pour le trafic aérien entre la Suède et l'étranger.

La ville de Malmö est alimentée par des eaux souterraines de deux provenances différentes ; 1° de 25 puits forés dans la commune de Grevie, située à 10 km à l'est de Malmö ; 2° de 11 puits forés dans la commune de Vomb, située à 30 km au nord-est de Malmö. Les eaux ainsi puisées sont conduites à Bulltofta au moyen de deux grands aqueducs en fer. Nous voyons ici les conduites d'eau en provenance de Grevie.

L'eau de Grevie est très *ferrugineuse* et n'est pas utilisable sans être déferriée. La figure 2 montre les quatre filtres à déferri-sation employés. L'eau débarrassée du fer est conduite dans six réservoirs (n^{os} 1 à 6) construits dans des bâtiments spéciaux et par conséquent *couverts*.

L'eau en excédent est transportée dans deux grands étangs de réserve (n^{os} 1 et 2) pour être utilisée quand la consommation d'eau de la ville dépasse la norme. Etant donné que ces étangs *ne sont pas recouverts*, l'eau qu'ils contiennent est considérée comme une *eau de surface*. On est donc obligé de *filtrer* cette eau

avant de la mélanger à celle qui provient des filtres de déferri-sation. Nous voyons ici les filtres employés (à sable, lents, non submergés).

Observons, d'autre part, les conduites d'eau efférentes qui,

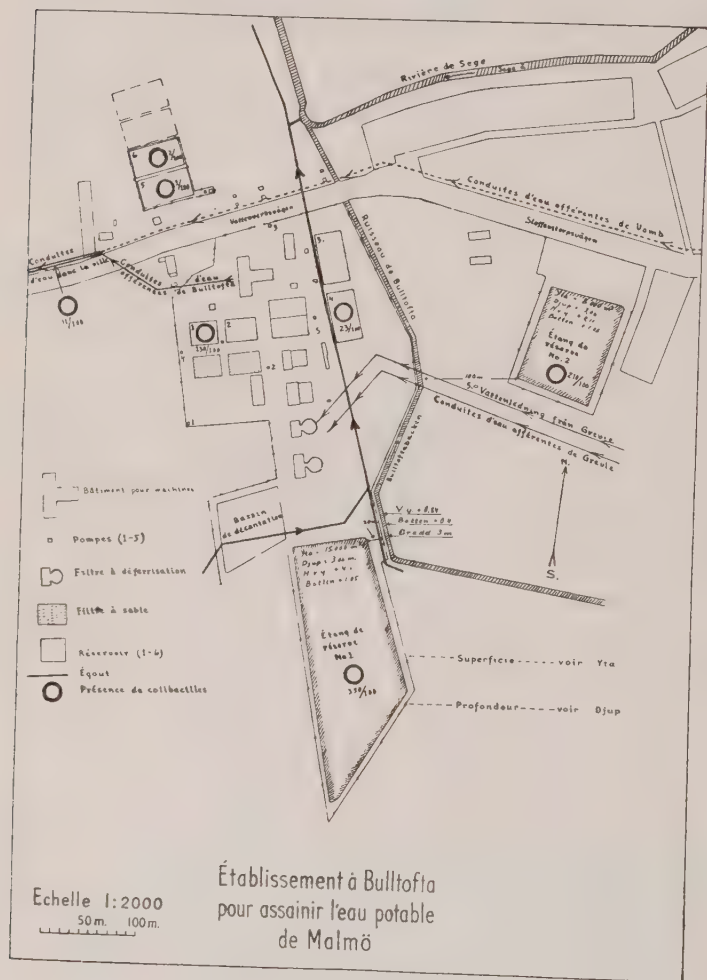


FIG. 2.

dans l'angle nord-ouest de Bulltofta, rencontrent celles en provenance de Vomb. Celles-ci contiennent une eau souterraine très pauvre en fer et par conséquent immédiatement utilisable.

Le 1^{er} août, nous avons eu l'occasion de poursuivre nos

recherches en vue de déceler l'origine de la contamination fécale constatée dans l'eau potable de la ville. En examinant des échantillons d'eau prélevés dans les conduits venant respectivement de *Grevie et de Vomb*, avant l'entrée à *Bulltofta*, nous les avons trouvés exempts de colibacilles. Il était donc évident que la souillure fécale s'était produite à l'Etablissement même. C'est ce que nous avons réussi à découvrir immédiatement. On constata que l'eau des deux étangs de réserve (n^{os} 1 et 2) contenait des colibacilles en grand nombre (le titre dans le n^o 1 fut déterminé à 350 coli par 100 ml, dans le n^o 2 à 210 par 100 ml). Nous voyons que la présence du colibacille est marquée, ici comme ailleurs, par un cercle portant le titre trouvé. Nous pouvons remarquer que ce ne sont que les réservoirs 2 et 3 qui, au cours de nos recherches, ont été trouvés exempts de colibacilles. Nous voulons surtout attirer l'attention sur l'état bactériologique du réservoir n^o 1. A l'examen effectué le 1^{er} août on a constaté la présence de colibacilles en grand nombre (titre : 130 coli par 100 ml). Cela indique que le filtre à sable a mal fonctionné (probablement par suite d'une perforation accidentelle de la membrane biologique).

Nous n'avons pas à nous préoccuper ici des mesures prophylactiques prises par les administrations sanitaires de la ville à la suite du résultat de nos recherches bactériologiques. Nous nous contenterons de signaler que l'on a exclu les étangs de réserve le 26 juillet et que l'on a essayé de purifier l'eau potable de la ville en y ajoutant une certaine dose de chlore, le 29 juillet à *Bulltofta* et le 30 juillet à *Vomb*.

Ayant constaté que les deux étangs constituaient l'origine de la souillure fécale de l'eau potable de la ville de Malmö, nous avons été naturellement amenés à y rechercher aussi le virus poliomyélitique. Dans ce but, nous avons fait deux expériences : la première le 12 août, la deuxième le 15 décembre, portant sur un grand volume d'eau. Nous avons fait prélever dans chacun des étangs 15 l la première fois et 25 l la seconde fois, eaux que nous avons fait mélanger.

Voici d'abord, en deux mots, notre façon de procéder. Cette eau, après avoir été conservée à notre Institut de quelques jours à quelques semaines à 4°, a été soumise à l'ultrafiltration (par une vingtaine de grandes bougies Berkefeld trempées dans une solution de collodion à 7 p. 100 dans l'acide acétique glacial). Quantité retenue après ultrafiltration : 1 500 ml. Concentration dans le vide à 4 à 6 mm Hg jusqu'à 100-150 ml. Le produit ainsi obtenu a été traité à l'éther pendant une heure pour le débarrasser des bactéries banales. Evaporation de l'éther. Inoculation au *Macacus cynomolgus* (par voies intrapéritonéale, intranasale et, si le produit final fut trouvé bactériolo-

giquement stérile; aussi par voie cérébrale). Observations des animaux. Sacrifice. Autopsie. Hémoculture. Examen histologique.

Première expérience. — Le prélèvement à 30 l effectué le 12 août, réduit par la méthode ci-dessus à 100 ml, fut inoculé le 10 octobre par voies nasale et intrapéritonéale à deux *Macacus cynomolgus* : MLO 1 et MLO 2.

Ces animaux furent observés pendant trente-quatre jours sans présenter de symptômes appréciables. On les sacrifia le 14 novembre.

L'examen histologique (2) du névraxe du *Macacus* MLO 1 révéla une périvascularite au voisinage du 3^e ventricule, méningite périvascularaire à monocytes, foyers monocytaires, dégénérescence des cellules nerveuses et neuronophagies typiques aux différents niveaux du tronc cérébral (voir fig. 3 et 4). Donc, infection inapparente montrant des lésions typiques de la *forme haute de la poliomyélite*.

Par contre, l'examen microscopique du névraxe du *Macacus* MLO 2 n'a pas montré d'altérations.

Deuxième expérience. — Le prélèvement à 50 l recueilli le 15 décembre et réduit à 150 ml fut inoculé à deux *Macacus cynomolgus* MLO 7 et MLO 8 (par voies intracérébrale, intrapéritonéale et intranasale), le 23 janvier 1950.

Le *cynomolgus* MLO 7 succomba cinq jours après l'inoculation à la suite d'une intoxication hémorragique non bactérienne.

Le *cynomolgus* MLO 8 montra le 30 janvier, c'est-à-dire sept jours après l'inoculation, une *paralysie faciale* et une *parésie du membre supérieur gauche*. Même état le 31 janvier, jour où l'animal fut sacrifié. Viscères macroscopiquement intacts. Hémoculture négative.

A l'examen histologique du névraxe, on rencontra, aux différents niveaux du système nerveux central, des altérations prononcées, dont les détails ont été décrits dans les fig. 5 et 6. En résumé : méningite périvascularaire monocyttaire, périvascularites du tronc cérébral, cellules nerveuses dégénérées et stades successifs de neuronophagie de la même région du névraxe.

2. Pour notre étude histologique nous avons, dans ce cas, ainsi que dans les cas qui vont être relatés ci-après, fixé les pièces de névraxe par le fixateur « Bouin-Dubosq-Brazil ». Coloration des coupes par la méthode « Hématoxyline-van Gieson ». Examen microscopique suivi de microphotographie, au cas où l'on aurait rencontré des lésions d'un intérêt spécial qu'il serait utile de reproduire.

Les microphotographies annexées ont été effectuées par notre collègue de l'Institut, le Dr M. Björklund, auquel les auteurs adressent leurs vifs remerciements pour sa bienveillance.

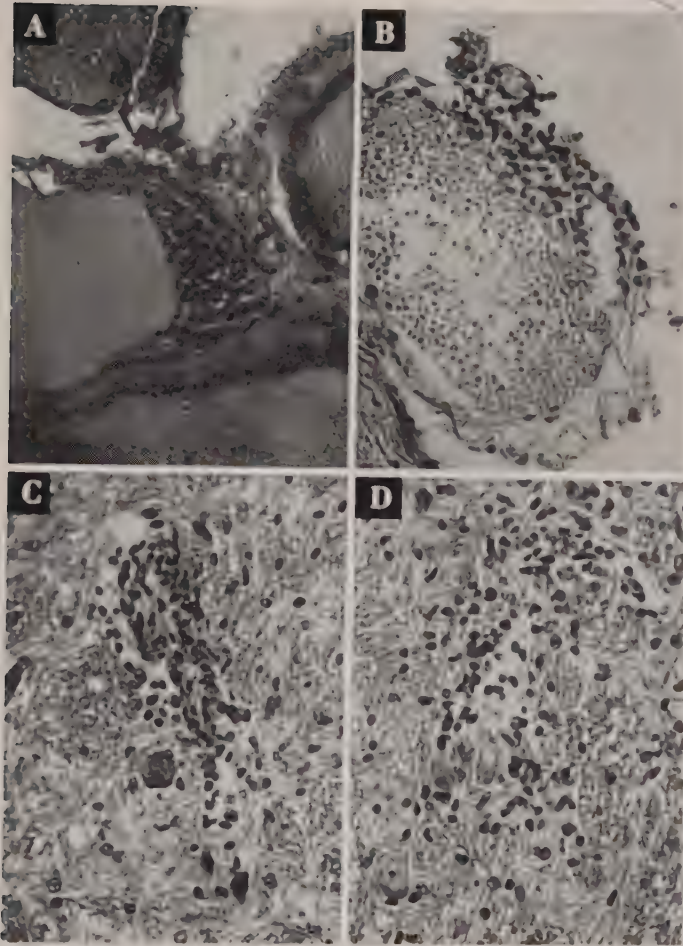


FIG. 3. — *Mac. cynomolgus* MLO₁.

A périvascularite à monocytes au voisinage du 3^e ventricule. Vaisseaux sanguins nettement dilatés; B, méningite périvascularaire à monocytes au niveau du bulbe; C, foyer monocytaire au même niveau du névraxe. Au-dessous une cellule nerveuse dans un stade avancé de dégénérescence. D, Deux neurones dégénérés entourés de lymphocytes et de macrophages (polyblastes de Wickman) à la même section du névraxe. A gauche, en bas, une cellule nerveuse normale.

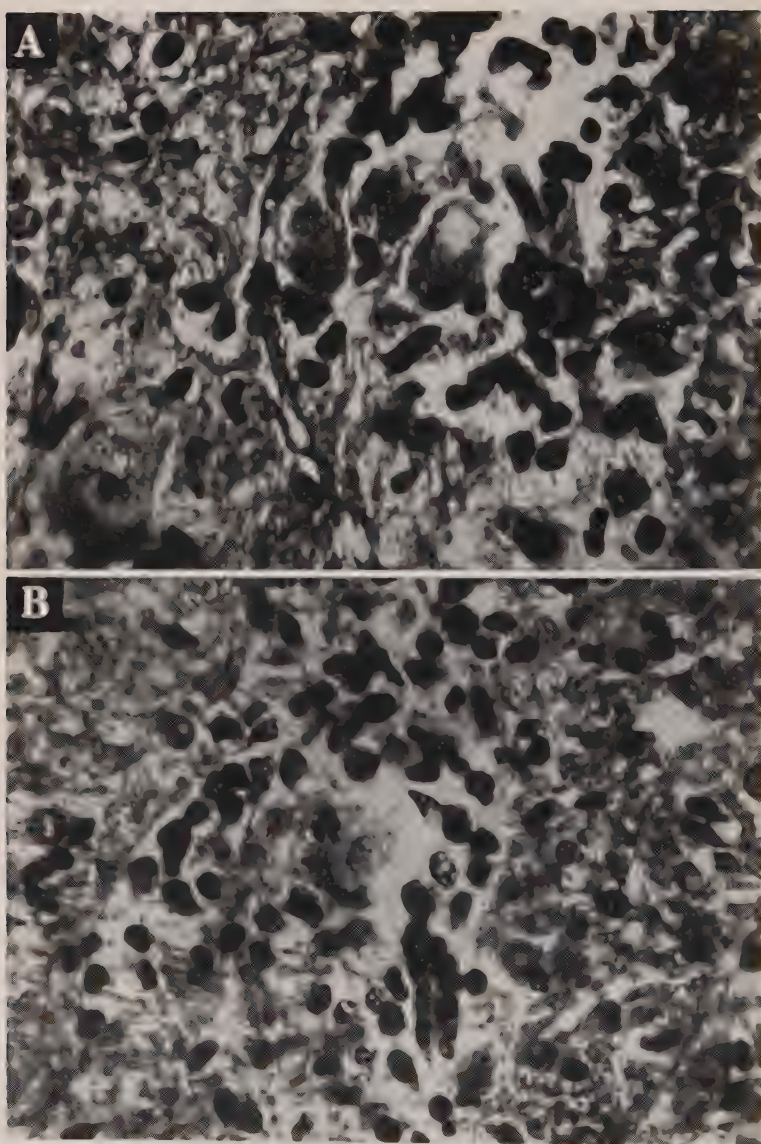


FIG. 4. — *Mac. cynomolgus MLO₁*.

A, détails de la figure 3-D; B, dans une coupe adjacente du foyer décrit (3-D) un neurone dégénéré envahi par un macrophage (centre de la figure).

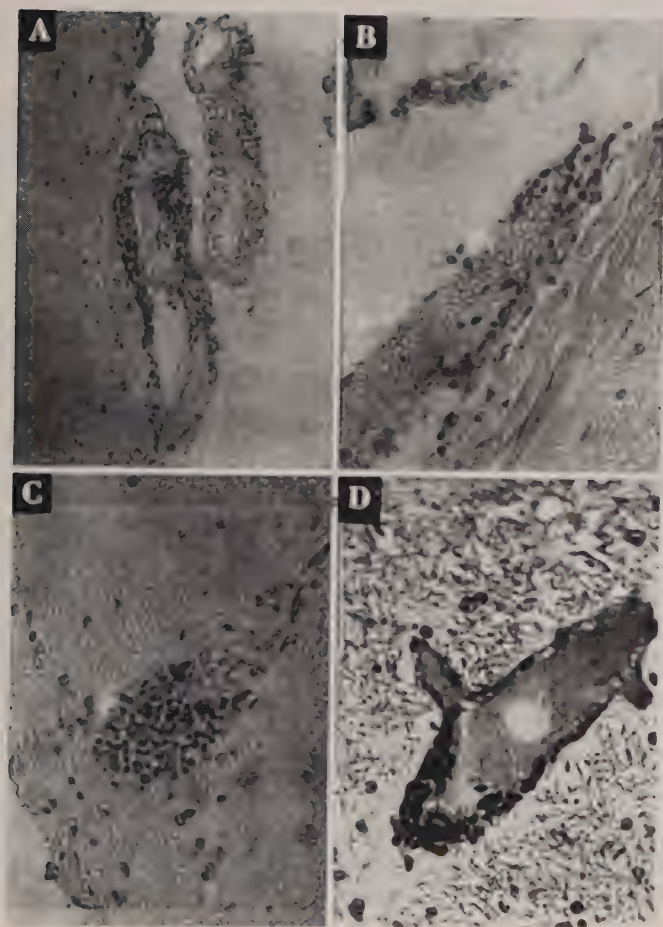


FIG. 5. — *Mac. cynomolgi* MLO₈.

A, méningite périvasculaire à monocytes du tronc cérébral au niveau de la lame quadrigème; B, méningite périvasculaire de la moelle cervicale; C, périvascularite massive du tronc cérébral, au-dessous de la partie moyenne du 4^e ventricule; D, lésion de type analogue au même niveau du névraxe.

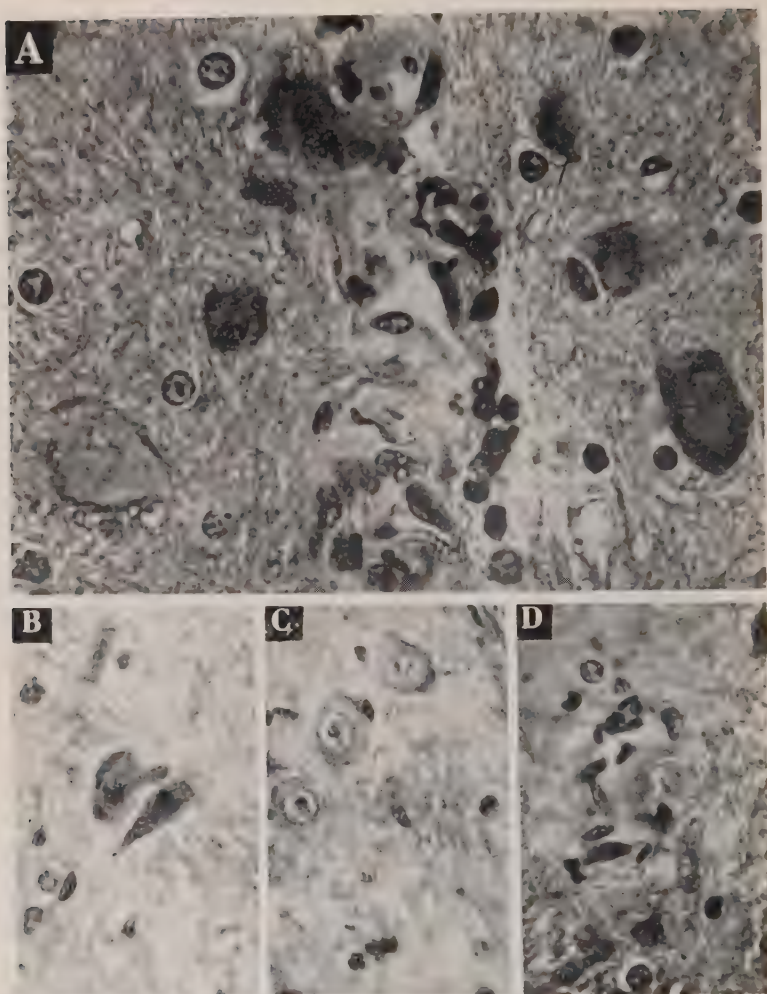


FIG. 6. — *Mac. cynomolgus* MLO₈.

Préparations illustrant des stades successifs de neuronophagie. A, neurones à un stade de dégénérescence prononcé (noyaux pycnotiques, basophilie du cytoplasme) autour d'une infiltration périvasculaire, d'où des éléments migrants (macrophages et leucocytes polynucléaires) paraissent être en voie de sortir pour se diriger vers les neurones dégénérés. A gauche, en bas, une cellule nerveuse normale. Coupe passant sous le 4^e ventricule (partie moyenne). Les préparations B, C, D montrent des étapes progressives de neuronophagie de la même région du tronc cérébral qu'en A; B, un macrophage au moment de l'effraction d'une cellule nerveuse en voie de dégénérescence; C, débris d'un neurone pénétré par un élément phagocytaire; D, foyer neuronophagique. On y reconnaît difficilement les derniers fragments des cellules nerveuses.

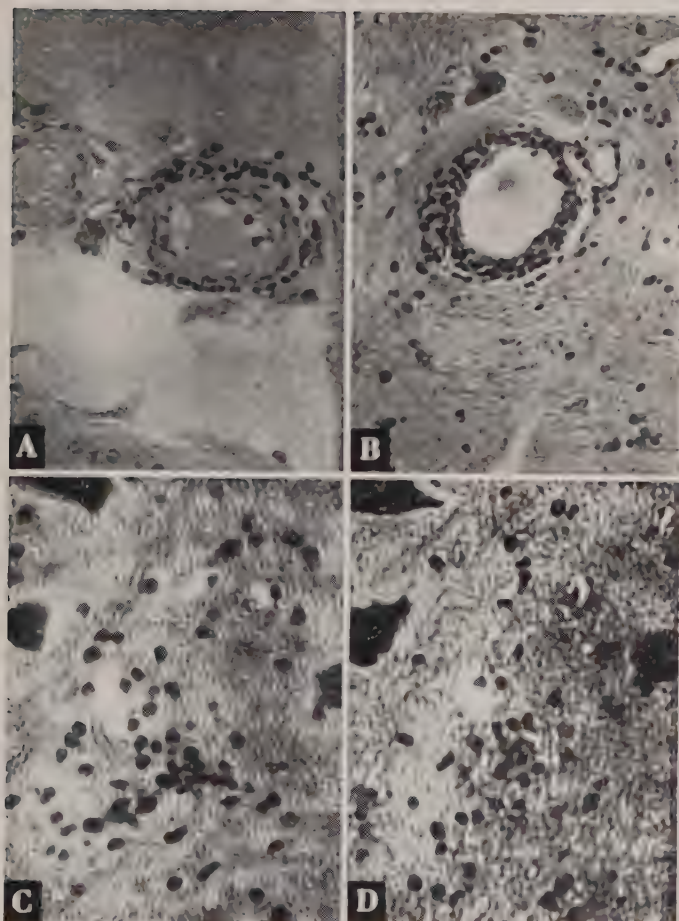


FIG. 7. — *Mac. cynomolgus* WLO₉. Passage dérivé du singe MLO₈.

A, méningite-perivascularite à monocytes au niveau du tronc cérébral (partie supérieure); B, perivascularite de la substance grise de la moelle cervicale (partie intermédiaire); C, infiltration cellulaire de la corne antérieure (moelle cervicale); D, neuronophagie typique de la corne antérieure (moelle cervicale).

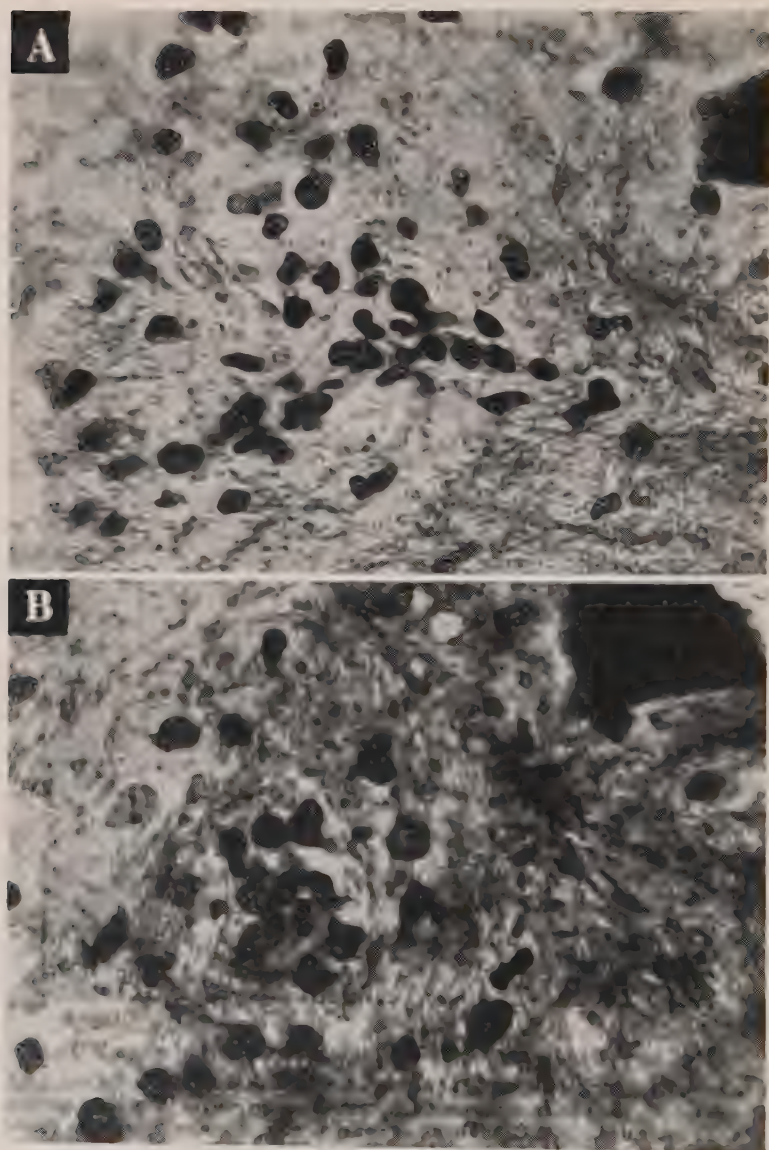


FIG. 8. — *Mac. cynomolgus* WLO₉. Figure 7 (C et D) grossie.
Deux lésions pathogénomiques : A, infiltration de la corne médullaire antérieure (lymphocytes, macrophages et polynucléaires) ; B, Foyer neurophagocytique de la même région.

Donc une *forme haute* de la poliomyélite avec des *symptômes cliniques typiques*.

Le 22 février, on pratiqua un passage en inoculant une émulsion du névraxe du *cynomolgus* MLO 8 au *cynomolgus* MLO 9.

L'animal fut observé jusqu'au 20 mars, c'est-à-dire pendant vingt-huit jours, sans présenter de symptôme de paralysie.

A l'*examen microscopique* du névraxe on découvrit des lésions typiques de poliomyélite à *forme inapparente* (voir fig. 7 et 8), c'est-à-dire méningite périvasculaire à monocytes, périvascularites de la substance grise de la moelle épinière, infiltrations cellulaires et destructions neuronophagiques de la corne antérieure de la moelle.

CONCLUSIONS ET COMMENTAIRES.

En nous basant sur les observations expérimentales faites par nous et prenant en considération les symptômes cliniques et surtout les lésions histologiques constatées chez les animaux d'expérience utilisés (*Macacus cynomolgus*), nous croyons avoir de bons arguments pour affirmer que nous avons réussi à prouver la *présence du virus poliomyélitique* dans l'eau de surface qu'emploie la ville de Malmö pour préparer son eau potable. Cette présence a été mise en évidence à deux reprises, la première fois quand l'épidémie se trouvait à son point culminant, la seconde fois quand elle était à son déclin, c'est-à-dire après un laps de temps de quatre mois. Ce fait prouve que l'ultragерme a gardé sa propriété pathogène longtemps dans le milieu en question, donc dans des conditions naturelles. Nous voulons rappeler que Levaditi, Lépine et l'un de nous ont montré, il y a maintenant une vingtaine d'années, que ce virus mélangé à de l'eau de conduite conserve sa virulence au moins pendant cent quatorze jours.

L'explication de ce résultat expérimental réside certainement en premier lieu dans le fait que nous avons eu l'occasion d'examiner une eau de surface d'un volume relativement restreint (l'étang de réserve n° 1 contient environ 50 000 m³ et l'étang n° 2 environ 25 000 m³), eau qui, en outre, avait été stagnante pendant plusieurs mois quand nous avons entrepris la deuxième expérience.

En second lieu, ce succès peut être dû à la méthode d'expérience avec laquelle nous avons travaillé, méthode que nous voulons recommander quand il s'agit de rechercher l'ultragерme poliomyélitique dans l'eau de boisson ou dans d'autres milieux liquides. En utilisant l'*ultrafiltration*, suivie par la concentration dans le vide, on peut facilement, en quelques jours, réduire 30 à 50 l d'eau et même plus à un petit volume inoculable au singe.

En recherchant l'ultragerme poliomyélitique dans une eau potable ou une eau de surface supposée en contenir, on ne doit guère s'attendre à pouvoir provoquer chez le simien réceptif une maladie expérimentale aussi manifeste que celle engendrée par l'inoculation d'un matériel provenant d'un sujet atteint d'une paralysie infantile typique. Le pouvoir pathogène du germe existant en dehors de l'organisme humain a probablement une virulence beaucoup plus faible. En outre, il y a certainement une différence quantitative considérable. C'est pour ces raisons que l'on doit, selon nous, fixer son attention sur l'existence de formes larvées ou d'infections tout à fait inapparentes de la poliomyélite expérimentale. Il est donc prudent de soumettre le névraxe des animaux sacrifiés à un examen microscopique très minutieux. C'est ce que nous avons fait en recherchant des lésions pathognomoniques chez les *cynomolgus* MLO 1, MLO 8 et MLO 9 (respectivement tronc cérébral et moelle épinière coupés en série) chez lesquels nous avons constaté la présence de lésions typiques : infiltrations périvasculaires, neurones dégénérés et neuronophagies.

Pour terminer, nous tenons à dire quelques mots sur l'origine de la souillure fécale constatée dans les étangs de réserve de l'Etablissement de Bulltofta. On peut, selon toutes probabilités, exclure une provenance de la souillure fécale dans la canalisation d'égout à l'Etablissement, étant donné que les étangs se trouvent à une distance assez grande de l'égout (l'étang n° 1 à 20 m, l'étang n° 2 à plus de 100 m). Par contre, il y a une possibilité plus probable. On a remarqué que pendant l'épidémie de l'été 1949, comme d'habitude les étangs ont été visités, et cela souvent, par des oiseaux d'eau (canards sauvages, mouettes). Il faut se rendre compte que la distance de Bulltofta à la mer (Oresund) n'est guère que de 2 km. L'eau d'Oresund est très polluée à cause de nombreux égouts qui y déversent leur contenu. On peut donc facilement s'imaginer que ces oiseaux ont agi comme des transporteurs de l'ultragerme poliomyélitique de la mer aux étangs de Bulltofta. Au point de vue épidémiologique, il nous paraît bien motivé de vérifier cette possibilité par voie expérimentale.

ACTION BACTÉRICIDE DE L'ISONIAZIDE (HYDRAZIDE DE L'ACIDE ISONICOTINIQUE) SUR LE BACILLE DE KOCH

par H. NOUFFLARD et M. DESLANDES (*).

Les substances bactériostatiques sont habituellement aussi bactéricides, mais souvent à des concentrations élevées qu'il est impossible d'atteindre dans l'organisme humain — parfois aussi seulement après un temps de contact prolongé.

Les conditions particulières de culture du bacille de Koch rendent délicate l'étude de l'action bactéricide de la plupart des tuberculostatiques connus, d'où la divergence des opinions émises au sujet de la streptomycine par exemple : ces divergences s'expliquent par la diversité des techniques employées.

L'isoniazide, nouveau venu incontestablement fort actif dans la thérapeutique antituberculeuse spécifique, pose à nouveau la même question. On a entendu dire que son action était bactéricide, beaucoup plus que celle des autres agents antituberculeux connus jusqu'ici. L'expérience suivante tente elle aussi de répondre à cette question.

L'isoniazide y a été laissé en contact un mois durant, dans du milieu de Dubos sans Tween, avec des bacilles tuberculeux humains virulents, et ceci à des concentrations très élevées, bien supérieures à celles que l'on obtient dans les humeurs après l'administration orale du médicament. Nous avons cherché si dans ces conditions les bacilles étaient encore capables de se multiplier, une fois lavés pour les débarrasser du médicament et transférés dans un milieu qui en est dépourvu. C'est là certes une expérience brutale, et ces repiquages fussent-ils demeurés stériles qu'il nous serait encore resté à déterminer si l'action bactéricide s'exerçait à des concentrations inférieures et pour des temps de contact moins prolongés. Mais l'action bactéricide nous est apparue au contraire comme peu marquée dans ces conditions d'expérience.

(*) Travail du laboratoire de l'hôpital Léon-Bernard, à Brévannes (services du professeur Debré et du Dr Bour), effectué grâce à la subvention des fonds de recherches de la Sécurité Sociale et de l'Institut national d'Hygiène et avec l'aide des laboratoires de recherches Specia.



La souche étudiée a été la souche de bacilles tuberculeux humains H37Rv (1)

Cette souche, en culture bien homogène en milieu de Dubos à la fraction V d'albumine et au Tween, vieille de huit à dix jours et d'une opacité équivalente à celle du tube 0,30 g de la gamme néphélométrique d'albumine, a été ensemencée à raison de 0,1 ml pour 3 ml de milieu dans une série de tubes de milieu de Dubos à la fraction V d'albumine, et au glucose, sans Tween, de pH 7,2, additionné d'isoniazide à des concentrations allant de 10 en 10 de la dilution 10^{-3} M (137 $\mu\text{g/ml}$ de milieu) à 10^{-8} M (0,00137 $\mu\text{g/ml}$) et 0.

Au bout de quinze jours, on observait une culture aussi abondante que dans le témoin dans les tubes contenant une concentration égale ou inférieure à 0,0137 $\mu\text{g/ml}$ d'isoniazide et une inhibition complète par 0,137 $\mu\text{g/ml}$. Au bout d'un mois cependant une croissance secondaire nettement appréciable à l'œil nu était apparue en présence de 0,137 $\mu\text{g/ml}$. D'autre part, le tube contenant 1,37 $\mu\text{g/ml}$ avait été contaminé accidentellement. C'est donc dans les tubes contenant respectivement 13,7 et 137 $\mu\text{g/ml}$, restés l'un et l'autre parfaitement clairs, que fut cherché le nombre de bacilles vivants, après exactement trente-deux jours de contact avec le médicament. La même recherche fut faite, par comparaison, dans le tube contenant 0,00137 $\mu\text{g/ml}$, où il n'y avait eu aucune inhibition de la culture.

Le contenu de ces trois tubes a été centrifugé pendant dix minutes à 5 000 tours et le culot de centrifugation a été lavé à deux reprises avec du plasma à 20 p. 100 pour le débarrasser de l'isoniazide. Après le deuxième lavage, le culot de centrifugation a été repris dans 1 ml puis dilué de 10 en 10 avec la même solution de plasma. Deux ou trois tubes de milieu de Löwenstein ont été ensemencés chacun avec 1 goutte (de 0,0125 ml mesurés à la pipette de Kahn) de chacune des dilutions suivantes :

Culot de centrifugation du tube ayant contenu 0,00137 $\mu\text{g/ml}$ d'isoniazide :

10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} 10^{-8} .

Culot de centrifugation des tubes ayant contenu 13,7 et 137 $\mu\text{g/ml}$ d'isoniazide :

0, 10^{-4} , 10^{-5} .

(1) Nous devons la souche H37Rv à l'obligeance de M. W. Steenken Jr. chef de laboratoire du Sanatorium de Trudeau (N.-Y.).

Le tableau suivant indique les comptes de colonies sur ces milieux de Löwenstein :

DILUTION du repiquage	CONCENTRATION D'ISONIAZIDE								
	0,00137 µg/ml			13,7 µg/ml			137 µg/ml		
0. . .				Innombrable.	Innombrable.	Innombrable.			
10 ⁻¹ . .				Innombrable.	Innombrable.	Innombrable.	0	0	0
10 ⁻² . .				5 à 100	5 à 100	5 à 100	0	0	0
10 ⁻³ . .	Une 50°.	Une 50°.	Une 50°						
			(ou +).						
10 ⁻⁴ . . .	Une 50°.	Une 50°.	Une 50°						
			(ou +).						
10 ⁻⁷ . . .	9	22	20						
10 ⁻⁸ . .	1	2	2						

Ainsi approximativement :

Dans le tube témoin, où il n'y avait eu aucune inhibition de la multiplication, après un mois de multiplication, il y avait :

$$\frac{9 + 22 + 20}{3} = 17 \text{ groupes de B. K. par goutteensemencée}$$
de dilution à 10⁻⁸ ;

soit 15 000 000 000 de B. K. ou de groupes de B. K./ml du culot de centrifugation repris dans 1 ml, soit environ 5 000 000 000 de B. K. ou de groupes de B. K./ml de la culture pure.

Après un mois de contact avec 13,7 µg/ml d'isoniazide, il restait vivants, environ :

$$75 \times \frac{1}{0,0125} = 6\,000 \text{ B. K./ml de dilution à } 10^{-2} ;$$

soit 200 000 B. K. ou groupes de B. K./ml de la culture initiale.

Après un mois de contact avec 137 µg/ml d'isoniazide les repiquages ne donnent naissance à aucune colonie. Il ne reste probablement aucun B. K. vivant. Il en reste en tout cas moins de 1 dans III gouttes de dilution au 1/10, soit moins de 10 dans III gouttes du culot repris dans 1 cm³, soit moins de 90/ml de culture.

Discussion. — Il semble donc d'après cette expérience que dans ces conditions, après un mois de contact, l'isoniazide :

ait été totalement bactéricide à la concentration de 137 µg/ml, n'ait pas été bactéricide à la concentration de 13,7 µg/ml.

En effet, le nombre de 200 000 B. K./ml retrouvés doit correspondre à peu près au nombre de bacilles qui avaient étéensemencés, car les cultures dont nous parlons titrent habituellement,

en gros, 10 000 000 de B. K/ml, soit 1 000 000 pour le 0,1 ml ensemencé, dans 3 ml de milieu, ce qui ramène bien à une concentration du même ordre.

Mais s'agit-il vraiment d'une absence de bactéricidie à la concentration de 13,7 $\mu\text{g/ml}$?

Tout d'abord, les solutions d'isoniazide sont-elles aussi stables qu'on l'a dit, en particulier lorsqu'il s'agit de solutions très diluées en milieu de Dubos ? Cette question devra être étudiée, mais il n'en reste pas moins que cette concentration bactériostatique n'avait pas empêché la persistance de bacilles vivants après un mois de contact (2).

Nous savons bien que les bacilles peuvent être soustraits à l'action d'un agent bactéricide par leur situation au centre d'une colonie, d'un grumeau de bacilles. Mais cette cause d'erreur, bien difficile à éliminer lorsqu'on ne retrouve que quelques bacilles vivants, ne nous paraît pas pouvoir être invoquée ici étant donné le nombre relativement très élevé de bacilles retrouvés, joint au caractère bien dispersé de la culture dont nous nous étions servis.

Une autre objection peut être faite à l'interprétation de cette expérience. Il n'est pas impossible *a priori* que l'isoniazide à la concentration de 13,7 $\mu\text{g/ml}$ ait été parfaitement bactéricide à l'égard de toutes les unités bacillaires sensibles au médicament, et que les 200 000 B. K. ml. retrouvés soient en réalité le résultat de la multiplication, un mois durant, des quelques bacilles résistants à 13,7 $\mu\text{g/ml}$ que contenait la souche initiale. La chose est facile à vérifier : nous avons repiqué en milieu de Dubos au Tween un mélange de ces colonies apparues sur milieu de Löwenstein : nous les avons retestées à l'isoniazide et nous avons vérifié qu'il s'agissait de bacilles aussi sensibles que la souche H37Rv initiale :

au bout de huit jours, la culture était à peu près totalement inhibée par 0,03 $\mu\text{g/ml}$ d'isoniazide ;

(2) Au moment où nous mettons sous presse, la grande instabilité de l'isoniazide en milieu de Dubos a été démontrée, d'une part par des titrages biologiques (R. Knox, M. B. King et R. C. Woodroffe, (*The Lancet*, 1^{er} novembre 1952, 243, 854, et D. A. Mitchison. *Id.*, p. 858) et, d'autre part, par les dosages chimiques qu'a faits pour nous M^{lle} Rayroux, dans le laboratoire du Dr Durel à l'hôpital Saint-Lazare. En particulier, dans un milieu de Dubos où nous avons mis 14 $\mu\text{g/ml}$, après un mois d'étuve, M^{lle} Rayroux ne trouve plus que 0,5 $\mu\text{g/ml}$. Nous ne pouvons donc plus dire qu'un contact d'un mois avec 13,7 μg d'isoniazide n'a pas été bactéricide, mais seulement un contact avec 13,7 μg pendant un temps indéterminé, probablement court, et un contact d'un mois avec des taux inconnus, de plus en plus bas d'isoniazide. D'autre part, le même facteur rend plus difficile de déterminer si les survivants n'ont pas été des individus relativement résistants.

au bout de quinze jours, il y avait croissance secondaire en présence de 0,06 μ /ml et inhibition complète par 0,125 μ g/ml en présence de 0,03 μ g/ml, apparition de quelques rares colonies d'isoniazide.

Notre expérience a donné des résultats très différents de ceux de W. Steenken Jr et E. Wolinsky [4] d'une part, de G. Middlebrook [5] d'autre part.

MM. Steenken et Wolinsky, en effet, n'ont plus pu mettre en évidence de bacilles vivants après cinq jours de contact avec 10 μ g/ml de « marsilid » (1-isonicotinyl-2-isopropyl hydrazine).

G. Middlebrook, après vingt-quatre heures de contact avec 0,1 μ g/ml d'isoniazide, a observé vingt fois moins de bacilles vivants que dans le tube contrôle sans isoniazide.

Nous ne savons pas quelles sont les raisons de ces discordances. Néanmoins les trois techniques employées ne sont pas comparables. Le corps étudié par M. Steenken est un dérivé de l'isoniazide. Peut-être aussi le fait que le culot de centrifugation avait été lavé dans notre expérience a-t-il joué un rôle ? Nous penserions surtout que le facteur le plus important peut avoir été le milieu employé : les autres auteurs se sont servis d'un milieu au Tween 80, nous d'un milieu sans Tween. Or, on connaît le rôle du Tween 80 produit « mouillant » pour favoriser l'action des antibiotiques : les bacilles de Koch, en présence de Tween, sont inhibés par la pénicilline [6]. Ces expériences mériteraient d'être reprises en faisant varier ces différents facteurs.

Résumé et conclusion. — Dans notre expérience, l'hydrazide de l'acide isonicotinique n'a eu aucune action bactéricide notable sur la souche de bacilles tuberculeux humains H37Rv. Le nombre de bacilles tuberculeux vivants est resté le même après un mois de contact, en milieu de Dubos sans Tween avec une concentration d'isoniazide environ cent fois supérieure à la concentration bactériostatique *in vitro* et bien supérieure aussi aux taux obtenus jusqu'ici chez l'homme.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] A. SCHATZ et S. A. WAKSMAN. *Proceed. Soc. exp. Biol. a. Med.*, 1944, **57**, 244.
- [2] G. MIDDLEBROOK et D. YEGIAN. *Am. Rev. Tub.*, 1946, **54**, 533.
- [3] B. ZETTERBERG. Suppl. LXXXII des *Acta Path. et Microb. Scand.*, 1949.
- [4] W. STEENKEN Jr et E. WOLINSKY. *Am. Rev. Tub.*, 1952, **65**, 765.
- [5] G. MIDDLEBROOK. *Am. Rev. Tub.*, 1952, **65**, 765.
- [6] W. M. M. KIRBY et R. J. DUBOS. *Proceed. Soc. exp. Biol. a. Med.*, 1947, **66**, 120.

SYNDROME HÉMATOLOGIQUE DU RAT BLANC INOCULÉ DE VIRUS RABIQUE FIXE

par Y. CHAMBON et M. GALEA.

(Ecole de Médecine de Tours [Indre-et-Loire].)

De nombreux auteurs ont étudié les modifications hématologiques au cours du traitement antirabique chez l'homme. Franco, Nicolas et Bancel, Ciuti, Carvalho et d'autres ont décrit autrefois l'augmentation du nombre des polynucléaires basophiles et éosinophiles. Jonnesco et ses collaborateurs [1] ont insisté sur la leucopénie avec neutropénie, la monocytose et surtout l'éosinophilie des sujets soumis à un tel traitement. Takaya a retrouvé l'accroissement des éosinophiles et des monocytes au cours de l'immunisation rabique chez le lapin comme chez l'homme [2]. Jonnesco a enregistré également une éosinophilie à la suite de l'inoculation intracérébrale de virus rabique chez le chien réfractaire [3]. A l'inverse, l'existence d'une polynucléose et d'une monocytopénie au cours de la rage humaine déclarée était bien connue depuis les anciens travaux de Courmont et Lesieur, Léger, Sabrazès et de Grailly. Mais c'est Jonnesco [4] qui a constaté que les modifications sanguines font leur apparition chez l'homme dès la période prodromique, un à deux jours avant l'apparition des premiers symptômes cliniques, d'où le nom de syndrome hématologique d'alarme proposé pour les désigner. Ce syndrome est caractérisé par l'augmentation des hématies parfois, mais surtout par celle des leucocytes totaux et des polynucléaires neutrophiles et par la diminution des monocytes et des éosinophiles ou même la disparition complète de ceux-ci. Massias devait retrouver peu après [4] l'anéosinophilie chez un sujet atteint de rage suraiguë. L'un de nous a eu l'occasion d'observer une modification de cet ordre à la fin de la période d'incubation chez le chien contaminé par le virus des rues. Seul Luck [5] semble, cependant, avoir consacré un travail à l'analyse du syndrome hématologique chez l'animal inoculé de virus fixe avec succès. Le lapin, utilisé par cet auteur, ne présenterait d'ailleurs ni polyglobulie ni leucocytose, mais seulement une lymphopénie et une éosinopénie précoces, avant l'élévation de la température.

Aussi, cette étude méritait d'être reprise. Nous nous sommes adressés, pour cela, à des rats albinos mâles de 200 g environ, du même âge et choisis autant que possible dans la même portée pour chacune de nos séries d'expériences, témoins non inoculés compris. Le virus fixe [6] a été injecté à la dose de 1/10 de centimètre cube par voie intracérébrale sous anesthésie générale à l'éther tout d'abord, sans anesthésie ensuite. Les prélèvements sanguins ont été effectués à l'extrémité de la queue à l'aide d'une pipette mélangeur de Potain à leucocytes, remplie jusqu'au trait 0,5, tous les jours depuis la date de l'inoculation jusqu'à la veille du décès et, quand cela a été réalisable, quelques heures encore avant celui-ci. Le sang destiné à la numération des éosinophiles a été dilué dans une solution d'éosine fraîchement préparée et soigneusement filtrée de formule [7] :

Eosine aqueuse à 2 p. 100.	5 cm ³
Acétone	5 cm ³
Eau distillée.	Q. S. P. 100 cm ³

Celui destiné à la numération des polynucléaires et mononucléaires l'a été dans une solution de violet de méthyle de formule [8] :

Violet pentaméthylé à 1 p. 100	V gouttes.
Acide acétique	0,5 cm ³
Eau distillée	100 cm ³

Après agitation modérée, le premier a été porté dans une grande cellule de Nageotte de 50 mm³ où on l'a laissé reposer trois minutes avant de compter au faible grossissement les éosinophiles sur 8 bandes ; le double du nombre obtenu représente le nombre de ces éléments par millimètre cube de sang, étant donnée la dilution au 1/20 utilisée. Le contenu de la seconde pipette a été porté dans une cellule de Thoma où la numération a été réalisée dans la totalité des carrés à un fort grossissement ; nous nous sommes bornés à dénombrer globalement lymphocytes et monocytes d'une part, granulocytes de l'autre, étant donnée la grande diversité des types leucocytaires chez le rat ; il a suffi de multiplier par 200 les nombres enregistrés pour avoir les nombres réels par millimètre cube de sang.

Les résultats que nous avons obtenus dans ces conditions sont consignés dans le tableau suivant. Nos rats ont présenté les premiers signes de parésie du train postérieur cinq à sept jours après l'inoculation, suivant les séries ; les jours suivants la paralysie s'est étendue et est devenue plus complète ; dès le septième jour parfois, le plus souvent le huitième ou le neuvième, les animaux étaient totalement paralysés et couchés sur le flanc ; la mort est survenue au bout de sept à dix jours, avec une nette prédominance pour le neuvième et le dixième. Aussi, avons-nous groupé nos résultats dans des colonnes numérotées de 1 à 7 qui correspondent respectivement au lendemain et au surlendemain de l'inoculation, à l'avant-veille, à la veille et au jour même de l'apparition des premiers symptômes, et enfin à la veille et au

jour du décès. Les moyennes indiquées ont été établies sur 14 rats pour les six premières colonnes, sur 10 seulement pour la dernière, la numération n'ayant pas toujours été possible dans les heures précédant la mort. Les résultats provenant du seul rat qui n'ait pas présenté de rage et ait survécu à l'inoculation ont été donnés à part aux jours correspondants : pareillement, ceux provenant des 10 témoins, non inoculés, qui ont été suivis pendant le même temps.

		1	2	3	4	5	6	7
Rats inoculés rage 14	Eosino.	431	442	293	472	88	70	23
	Mono.	5 400	5 500	5 200	5 200	6 000	4 700	3 600
	Polyl.	4 200	1 000	4 700	2 600	4 400	4 800	3 700
	Leuco.	6 600	6 500	6 900	7 800	10 400	9 500	7 300
Rat inoculé ravage 1	Eosino.	406	390	428	584	430	440	408
	Mono.	5 000	4 600	5 500	4 200	5 800	4 000	4 200
	Polyl.	4 200	1 400	1 600	600	4 400	2 500	1 800
	Leuco.	6 200	6 000	4 800	4 800	5 200	5 500	6 000
Rats témoins non inoculés 10	Eosino.	384	442	400	442	402	360	444
	Mono.	4 000	4 200	4 000	4 500	4 100	4 000	4 800
	Polyl.	1 600	1 700	1 500	4 800	4 600	4 800	4 900
	Leuco.	5 600	6 000	5 500	6 600	5 700	5 800	6 700

De la lecture de ce tableau, il ressort qu'il existe un syndrome hématologique particulier chez le Rat blanc inoculé de virus rabique fixe. Ce syndrome est caractérisé tout d'abord par une diminution marquée des éosinophiles, en règle dès le deuxième jour avant l'apparition des signes, dans certains cas le premier seulement; elle s'accroît dans les jours suivants, mais en s'abaissant que rarement à la disparition complète de ces éléments du sang périphérique; nous avons observé celle-ci dans deux cas seulement et quelques heures avant la mort. Parallèlement, les mononucléaires sanguins subissent une baisse importante, mais qui n'est parfois que relative, par rapport au nombre total des leucocytes, et les polynucléaires, une augmentation concomitante qui fait passer progressivement le rapport mononucléaires polynucléaires de 4,50 le lendemain de l'inoculation à 3,66 l'avant-veille de l'apparition des premiers signes, à 1,36 le jour même de celle-ci et enfin à 0,97 le jour du décès. Quant aux leucocytes totaux, ils marquent un accroissement un peu avant et surtout après la déclaration de la rage: ils tendent cependant à faire retour à la normale dans les heures qui précèdent la mort, mais c'est là sans doute un phénomène agonique; la leucocytose est d'ailleurs assez modérée dans l'ensemble: si nous avons pu

noter des chiffres de 14 000 et même de 16 000 chez certains animaux. Ces modifications sanguines, en tous points superposables à celles décrites dans des conditions analogues chez l'homme, sont bien propres aux rats inoculés de la rage avec succès. Aucun des rats témoins ne les a présentées : leurs éosinophiles ne sont jamais tombés au-dessous de 360, leurs mononucléaires au-dessous de 4 000 ; leurs polynucléaires ne sont jamais montés au-dessus de 1 900 et leurs leucocytes totaux au-dessus de 6 700 ; leur rapport mononucléaires/polynucléaires a toujours oscillé entre 2,66 et 2,22 dans les limites de durée des expériences. On sait que la proportion des mononucléaires et poynucléaires est très variable chez le Rat, les premiers dominant en règle sur les seconds, mais l'inverse n'étant pas rare. C'est ce qui explique que le rapport moyen mononucléaires/polynucléaires soit sensiblement différent chez les témoins et chez les rats inoculés au début de leur période d'incubation. Il n'en demeure pas moins qu'il a baissé constamment jusqu'à la mort chez ces derniers. Quant au rat qui a résisté à l'inoculation, ses éosinophiles ont présenté un accroissement déjà perceptible le troisième jour après celle-ci, mais surtout net le quatrième, en même temps que ses mononucléaires, une hausse relative notable et ses polynucléaires et leucocytes, une baisse importante ; le rapport mononucléaires/polynucléaires est passé en particulier de 4,16 le lendemain de l'inoculation à 8,33 trois jours plus tard. Ces modifications, bien qu'elles ne se soient pas maintenues longtemps, sont comparables à celles observées au cours de l'immunisation antirabique chez l'homme ou l'animal, et après l'inoculation d'animaux naturellement réfractaires. Il est vraisemblable que tel était le cas pour notre rat ; mais cette observation étant unique, nous ne voulons pas en tirer de conclusion certaine. Nous ne l'avons retenue, comme celles portant sur les rats témoins, qu'à titre de comparaison avec le syndrome hémalogique défini qu'offre le rat au cours des périodes d'incubation et d'état de la rage.

Quelle peut être la signification de ce syndrome ? Jonnesco et ses collaborateurs [4] y ont vu, chez l'homme, une manifestation de nature toxi-infectieuse et appuyé leur opinion sur les arguments suivants, entre autres : précocité du syndrome dès la période prodromique, évolution parallèle à la marche de la maladie, analogie avec les modifications sanguines observées dans les toxi-infections. Tous ces caractères se retrouvent, nous venons de le voir, chez le rat inoculé de virus fixe. Ayant observé, par ailleurs, dans 3 cas de rage humaine, que l'incubation et la maladie déclarée avaient duré d'autant plus longtemps que la réaction sanguine au cours du traitement avait été plus nette, ces auteurs lui ont attribué un rôle pronostique important. C'est du

rapprochement de l'éosinophilie des sujets immunisés avec la modification inverse observée avant l'éclosion de la rage et pendant la rage déclarée, que Jonnesco concluait, en 1934 [3] à l'existence d'un lien entre le taux des éosinophiles et le processus d'immunité à l'égard de la rage, bien qu'il n'ait pu mettre, à l'époque, en évidence une action neutralisante de ces éléments sur le virus rabique *in vitro*. Cet auteur devait cependant réaliser, par la suite, d'ingénieuses expériences démontrant que les leucocytes de chien naturellement immun sont capables de détruire le virus *in vivo* [9, 10] et, d'ailleurs aussi, moyennant certaines précautions, *in vitro* [10]. Seki [11] n'avait-il pas déjà constaté, à l'opposé, que la diminution des leucocytes *in vivo*, provoquée par le benzol chez le lapin, le conduit à s'infecter par le virus rabique fixe plus rapidement que les animaux non traités ? Nous avons essayé, quant à nous, de mettre en évidence une relation entre l'intensité et la précocité des modifications hématologiques enregistrées chez le rat et l'évolution de la rage. Voici, réunis en un tableau, les résultats auxquels nous sommes parvenus.

DURÉE de l'incubation	NOMBRE D'ÉOSINOPHILES			RAPPORT MONO/POLYNUCLÉAIRES		
	Avant-veille des premiers signes	Jour de la paralysie	Jour de la mort	Avant-veille des premiers signes	Jour de la paralysie	Jour de la mort
5 jours . . .	84	29	13	1,20	0,95	0,76
6 jours . . .	235	65	19	2,95	1,32	0,87
7 jours . . .	352	125	28	4,07	1,60	1,09
<hr/>						
DURÉE TOTALE de la survie						
7 jours . . .	84	29	13	1,20	0,95	0,76
8 jours . . .	202	45	17	2,68	1,23	0,80
9 jours . . .	368	149	25	4,03	1,68	1,04
10 jours . . .	438	108	48	5,64	1,64	1,53

On constate de façon évidente que la chute des éosinophiles et du rapport mononucléaires/polynucléaires est d'autant moins marquée que la durée de l'incubation est plus longue et la date de la mort plus reculée. L'unique rat mort au dixième jour permet, de plus, de constater que les modifications sanguines

sont d'autant plus tardives que l'évolution est plus prolongée. Il apparaît donc que, chez le rat inoculé de virus fixe, la maladie survient plus précocement et dure moins longtemps chez les animaux qui présentent un syndrome hématologique lui-même plus précoce et plus accusé. Cela permet de lui attribuer une valeur pronostique indéniable et concorde parfaitement avec les observations de Jonnesco chez l'homme traité par le vaccin antirabique. Mais de ce que la sévérité de la marche de l'affection va de pair avec une accentuation de la diminution du nombre des éosinophiles et du rapport mononucléaires/polynucléaires et que l'immunisation active s'accompagne des modifications inverses, on ne peut cependant conclure que les premières trahissent la défaillance des moyens de défense de l'organisme, tandis que les secondes traduiraient leur exaltation. Il est possible que les éosinophiles en particulier, s'ils jouent un autre rôle que celui de témoins, disparaissent de la circulation périphérique chez le sujet en puissance ou en état de rage dans la mesure précisément où ils sont requis pour exercer leurs fonctions défensives. N'est-ce pas le cas, d'après certains, pour les lymphocytes qui ne baisseraient dans le sang, sous l'influence de la cortico-surrénale, que pour libérer leurs globulines, supports des anticorps [12] ? Nous avons été tentés, de fait, dès le début de nos recherches, de rapporter le syndrome hématologique observé à une stimulation de la cortico-surrénale, l'existence de celle-ci après inoculation intracérébrale de virus fixe étant rendue parfaitement possible pour la commande diencephalo-hypophysaire de la cortico-surrénale. Un certain nombre d'arguments, en effet, militait *a priori* en faveur de l'intervention de cette glande. La glycémie est toujours ou presque toujours élevée, bien qu'assez modérément, chez les animaux atteints de rage, et la glycosurie est fréquente [13]. Il existe dans les mêmes conditions une rétention chlorurée constante, le sang s'enrichissant notablement en chlorures [14]. Enfin et surtout, les manifestations cytologiques sanguines provoquées par le virus rabique sont tout à fait comparables à celles déterminées par la stimulation de la cortico-surrénale à l'aide de l'ACTH ou par la cortisone. C'est pour vérifier notre hypothèse que nous avons été conduits à étudier des rats inoculés de virus fixe et surrénalectomisés tout à la fois. Les constatations que nous avons pu faire ainsi relativement à l'évolution de la rage se révèlent si intéressantes que nous lui consacrons une note à part, à la suite de celle-ci.

En résumé, nous montrons, dans ce travail, qu'il existe chez le Rat blanc inoculé de virus rabique fixe des modifications sanguines caractérisées par une diminution des éosinophiles et des mononucléaires et une augmentation des polynucléaires et leucocytes en général. Ces modifications font leur apparition dès le premier ou

le second jour avant l'éclosion des signes de paralysie, méritant bien le nom de syndrome hématologique d'alarme. Le syndrome exactement inverse a pu être observé chez un rat réfractaire à la rage. Les phénomènes enregistrés à la fin de la période d'incubation et au cours de la rage déclarée sont, par ailleurs, d'autant plus précoces et plus nets que ces dernières ont une moins longue durée. La signification de ces phénomènes est discutée et leur origine cortico-surrénale envisagée.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] D. JONNESCO, V. VALTER et T. TEODOSIU. *C. R. Soc. Biol.*, 1927, **97**, 983.
- [2] J. TAKAYA. *Orient. J. Dis. Infants*, juillet 1928, 4, et juillet 1929, 17.
- [3] D. JONNESCO. *Ces Annales*, 1934, **53**, 664-680.
- [4] Ch. MASSIAS. *C. R. Soc. Biol.*, 1928, **99**, 319.
- [5] O. LUCK. *Rev. Microb.* (russe), 1937, **16**, 134.
- [6] Fourni par M. DONATIEN, de l'Institut Pasteur d'Alger, auquel nous exprimons toute notre reconnaissance pour son aide précieuse.
- [7] G. LAROCHE et J. TRÉMOLIÈRES. *Sem. des Hôp.*, 1950, n° 32, 1487-1492. — F. COSTE, F. DELBARRE et M. BOUREL. *Ibid.*, 1950, n° 64, 3038-3043.
- [8] M. LANGERON. *Précis de Microscopie*, 7^e édition, p. 1122. Masson, édit., Paris 1949.
- [9] D. JONNESCO. *C. R. Soc. Biol.*, 1936, **121**, 1203.
- [10] D. JONNESCO. *Zentralbl. Bakt. I.*, 1944, **151**, 254-261.
- [11] Y. SEKI. *Orient. J. Dis. Infants*, mai 1929, 39.
- [12] T. F. DOUGHERTY, A. WHITE et J. H. CHASE. *Proceed. Soc. exp. Biol.*, 1944, **56**, 28-93 et 1945, **59**, 172-175.
- [13] P. REMLINGER et J. BAILLY. *C. R. Soc. Biol.*, 1937, **125**, 708.
- [14] P. REMLINGER et J. BAILLY. *C. R. Soc. Biol.*, 1937, **126**, 789.

ACTION DE LA SURRÉNALECTOMIE CHEZ LE RAT BLANC INOCULÉ DE VIRUS RABIQUE FIXE

par Y CHAMBON et M. GALEA.

(Ecole de Médecine de Tours [Indre-et-Loire].)

L'étude des modifications sanguines présentées par le Rat blanc au cours des périodes d'incubation et d'évolution de la rage à virus fixe nous ayant suggéré l'idée d'une participation éventuelle de la cortico-surrénale à leur genèse [1], nous avons été amenés à pratiquer l'inoculation chez des animaux surrénalectomisés et inversement à surrénalectomiser des animaux inoculés. L'ablation bilatérale des surrénales par voie abdominale a été réalisée, dans le premier cas, deux à trois jours avant l'inoculation intracérébrale de virus fixe, dans le second, deux ou trois jours après celle-ci. Tous nos animaux ont été maintenus, aussitôt après l'intervention, à une température ambiante de 25° à 30° et abondamment ravitaillés en eau salée à 10 p. 1 000. Nous avons pratiqué, de plus, chez deux rats inoculés, l'ouverture de la cavité abdominale sans toucher aux surrénales, de façon à exercer un traumatisme d'importance à peu près égale à celui subi par les rats surrénalectomisés ; ces deux animaux ont, bien entendu, été soumis à un régime normal. Nous donnons ci-après les résultats que nous avons ainsi obtenus, concernant les éléments sanguins. Les colonnes numérotées de 1 à 7 correspondent au jour et au lendemain de l'inoculation, à l'avant-veille et à la veille de l'apparition des premiers signes, au jour même de celle-ci et à la veille de la mort qui se confondent chez les rats surrénalectomisés, enfin, aux heures précédant la mort. Les moyennes qui figurent dans les 6 premières colonnes ont été établies sur 16 et 8 animaux respectivement pour les rats opérés avant et après l'inoculation ; celles qui figurent dans la dernière colonne, sur 5 et 2 animaux seulement, la plupart des rats surrénalectomisés étant décédés rapidement et dans le courant de la nuit.

Nous constatons tout d'abord, à la lecture de ce tableau, que les animaux inoculés et traumatisés se comportent sensiblement comme ceux qui ont subi la seule inoculation [1] : le taux des éosinophiles et le rapport mononucléaires/polynucléaires diminuent régulièrement à partir du deuxième jour avant l'apparition

		1	2	3	4	5	6	7
Rats inoculés + intervention simulée (2)	Eosino. . .		300	260	228	127	18	40
	Mono. . .		4 200	4 200	3 900	3 200	2 200	2 200
	Poly. . .		1 100	1 300	2 400	2 800	3 100	3 500
	Leuco. . .		5 300	5 500	6 300	6 000	5 300	5 700
Rats inoculés après surrénalectomie (16)	Eosino. . .	590	690	836	1 016	1 059		793
	Mono. . .	6 300	7 000	10 400	11 100	12 900		10 600
	Poly. . .	3 000	4 200	5 000	5 900	5 300		5 400
	Leuco. . .	9 300	11 200	15 400	17 000	18 200		16 000
Rats inoculés avant surrénalectomie (8)	Eosino. . .		330	391	479	481		340
	Mono. . .		4 500	5 000	5 100	5 500		5 600
	Poly. . .		1 500	1 600	2 700	2 700		2 000
	Leuco. . .		6 000	6 600	7 800	8 200		7 600

des premiers signes ; cette diminution est même plutôt plus accusée, le traumatisme agissant sans doute comme « stress ». Bref, le traumatisme de l'intervention n'est pas capable de perturber l'apparition et l'évolution du syndrome hématologique de la rage à virus fixe. Or ce syndrome manque totalement chez les animaux surrénalectomisés soit avant, soit après l'inoculation. Les premiers et, à un moindre degré, les seconds, plus récemment opérés, présentent une hémoco-concentration globale, normale après l'ablation des surrénales, mais les rapports éosinophiles/leucocytes totaux et mononucléaires/polynucléaires ne diminuent pas sensiblement au cours de la période d'incubation ou de la rage déclarée. C'est ainsi que la proportion éosino/leuco, qui est déjà de 36 p. 1 000 deux jours avant l'apparition de la paralysie pour tomber à 8 p. 1 000 le jour de celle-ci et à 3 p. 1 000 le jour de la mort chez les animaux non opérés [4], ne descend pas au-dessous de 44 p. 1 000 chez les surrénalectomisés. Le rapport mono/poly, de même, ne s'abaisse pas au-dessous de 1,66 dans ce dernier cas, alors qu'il atteint 1,36 le jour de l'apparition de la paralysie et 0,97 le jour du décès dans le premier. Il apparaît donc que les modifications hématologiques observées par nous chez le rat blanc inoculé de virus rabique fixe sont sous la dépendance des glandes surrénales. Etant donné la corrélation qui existe entre ces modifications et l'évolution de la rage chez le rat [4], cela laisse déjà entrevoir l'importance des surrénales dans les processus de défense de l'organisme contre le virus rabique.

Mais cette importance est mieux démontrée encore par la comparaison des durées d'incubation et de la survie depuis l'inoculation chez les rats non surrénalectomisés et surrénalectomisés. Nous avons été frappés, en effet, dès nos premiers essais

de surrénalectomie avant inoculation par le fait que nos animaux tombaient plus précocement malades et mouraient beaucoup plus rapidement que les témoins, inoculés à la même époque, en possession de leurs surrénales. Mais la mort étant survenue le septième ou huitième jour après la surrénalectomie, nous l'avons d'abord attribuée à cette dernière. Le taux de mortalité se relève, en effet, beaucoup aux alentours de cette date chez les animaux surrénalectomisés. C'est pourquoi nous avons pratiqué, dans une deuxième série d'expériences, la surrénalectomie après l'inoculation seulement. Les résultats ont été les mêmes. Etant prévenus d'ailleurs, nous avons pu noter des signes nets de paralysie chez ces animaux. Enfin, l'inoculation de 1/20 de centimètre cube d'une émulsion au 1/10 de leur substance cérébrale, aussitôt après le décès, dans le cerveau de 3 souris grises pour chacun d'eux a entraîné la mort de celles-ci vers le huitième ou neuvième jour avec tous les symptômes d'une rage paralytique. Nous donnons ci-après les résultats que nous avons obtenus. Nous n'y avons, bien entendu, pas fait figurer les quelques rats morts le soir même ou le lendemain de l'inoculation ou de l'intervention chez lesquels le seul traumatisme opératoire est à considérer.

	DURÉE DE L'INCUBATION			DURÉE TOTALE DE LA SURVIE		
	Moyenne	Minimum	Maximum	Moyenne	Minimum	Maximum
Rats inoculés sans autre traitement.	6 jours 5 heures.	5 jours (3 cas)	7 jours (6 cas).	8 jours. 18 heures.	7 jours (3 cas).	10 jours (1 cas).
Rats inoculés avec intervention simulée.	6 jours.	6 jours (2 cas).		9 jours 12 heures.	9 jours 12 heures (2 cas).	
Rats surrénalectomisés avant inoculation.	4 jours 10 heures.	2 jours 12 heures (2 cas).	6 jours) (1 cas).	5 jours.	3 jours (2 cas).	7 jours 4 heures (1 cas).
Rats surrénalectomisés après inoculation.	5 jours.	4 jours 5 heures (1 cas).	5 jours 5 heures (4 cas).	5 jours 19 heures.	5 jours (1 cas).	6 jours (4 cas).

Ainsi, les rats inoculés sans autre traitement et les rats inoculés et laparotomisés se comportent de façon tout à fait comparable : apparition des premiers signes en moyenne au début du septième jour, mort vers la fin du neuvième ou le dixième ; les animaux les plus précocement atteints ou morts ne l'ont pas été avant les sixième et huitième jours respectivement. Les rats surrénalectomisés tant après qu'avant l'inoculation ont, par contre, un compor-

tement entièrement différent : les premières paralysies débutent le plus souvent dès le cinquième jour et le décès se produit dans le courant du sixième, quelques heures à peine après la fin de la période d'incubation ; les durées les plus courtes observées pour celle-ci ou la survie totale ont été de deux et trois jours. La privation des surrénales, donc, non seulement supprime le syndrome hématologique propre au rat blanc inoculé de virus fixe, mais aussi écourte nettement chez ce dernier la période d'incubation et, plus encore la période d'état de la maladie. Cela est, croyons-nous, entièrement nouveau. Certes, l'importance des surrénales dans les infections ou intoxications aiguës ou chroniques est bien connue aujourd'hui. Mais nous n'avons pas connaissance qu'elle ait été jamais démontrée dans la rage [2]. De façon générale, d'ailleurs, rares sont les modifications apportées à un organisme infecté par le virus rabique qui paraissent susceptibles de faire varier le cours de la maladie. L'état d'entretien et de nutrition des animaux, contrairement à une ancienne opinion [3], n'a pas d'influence, même chez les sujets inoculés au contact du nerf sciatique [4]. Le blocage du système réticulo-histiocytaire n'a donné que des résultats inconstants [5] s'il agit peut-être sur l'animal déjà en état d'immunité antirabique [6]. L'anesthésie générale n'a aucune influence [7], pas plus que la perturbation de la circulation cérébrale par ligature des jugulaires ou des carotides [8]. Seules, semblent capables de raccourcir la période d'incubation la mise au contact direct du système nerveux, par introduction sous-arachnoïdienne, de microorganismes pathogènes ou de toxines [9], la spoliation sanguine avant l'inoculation ou la leucopénie benzoïque [8]. Inversement, la période d'incubation est allongée chez les animaux soumis à l'évacuation du L. C.-R. avant l'inoculation subdurale ou inoculés dans une portion d'espace méningé artificiellement isolée [10] ; les méninges paraissent, d'ailleurs, capables de participer à la lutte contre le virus rabique [11]. Ces dernières constatations pourraient éventuellement fournir une autre explication de l'action des cortico-surrénales. Outre leur influence sur les constituants cellulaires du sang, qui participent sans doute, nous l'avons vu [1], aux processus de défense contre la rage, les cortico-surrénales pourraient intervenir dans la production et la circulation du L. C.-R., par le contrôle qu'elles exercent sur les électrolytes sanguins et tissulaires, et peut-être aussi dans le pouvoir défensif des méninges, comme elles semblent le faire dans celui du système réticulo-histiocytaire. Mais ce ne sont là qu'hypothèses qui réclament le contrôle des faits, d'autant que, si la privation ou l'altération des cortico-surrénales diminue indiscutablement la résistance aux agressions infectieuses, toxiques ou autres, les résultats concernant l'action

des hormones isolées jusqu'ici de ces glandes sont loin d'être concordants [12]. Nous n'avons trouvé aucun travail relatif à l'action des hormones de la cortico-surrénale sur l'évolution de la rage. Ce sont des recherches de cet ordre que nous pratiquons en ce moment, avec la cortisone et la désoxycorticostérone, chez le rat blanc inoculé de virus fixe.

En conclusion, nous avons établi que le syndrome hématologique déterminé par l'inoculation de virus rabique fixe chez le rat blanc est supprimé par la surrénalectomie avant ou après celle-ci. Le simple traumatisme opératoire est, par contre, incapable d'agir de cette façon. La participation des cortico-surrénales à un tel syndrome apparaît donc indiscutable. Enfin et surtout, la suppression de ces glandes écourte considérablement la durée d'incubation et de survie, la maladie une fois déclarée. Ce fait, joint au précédent, semble en faveur d'une intervention de la cortico-surrénale dans les processus de défense contre le virus rabique. Plusieurs hypothèses, quant au mécanisme de cette intervention, sont à considérer.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Y. CHAMBON et M. GALEA. *Ces Annales*, 1952, **83**, 774.
- [2] M. le professeur LÉPINE, de l'Institut Pasteur de Paris, a bien voulu nous signaler que ses propres recherches à ce sujet étaient demeurées vaines ; nous le remercions vivement ici de son obligeance.
- [3] MARCIALIS. *Gazz. Osped. Clinich.*, avril 1913, anal. dans *Paris Méd.*, août 1913, 266.
- [4] P. REMLINGER et J. BAILLY. *C. R. Soc. Biol.*, 1932, **109**, 1074.
- [5] A.-C. MARIE. *C. R. Soc. Biol.*, 1929, **101**, 6.
- [6] W. GLOWACKA et M. LABEDZ. *Medycyna Doswiadezalna i Spot.*, 1938, **23**, 162.
- [7] P. REMLINGER et J. BAILLY. *C. R. Soc. Biol.*, 1932, **109**, 1241.
- [8] Y. SEKI. *Orient. J. Dis. Infants*, mai 1929, 39.
- [9] E. G. SUHKOVA. *Archiv. des Sci. biol., Moscou*, 1938, **51**, 40-59.
- [10] A. SPERANSKY. *Ces Annales*, 1927, **91**, 166-188.
- [11] M. TZEKNOVITZER et I. GOLDENBERG. *Ces Annales*, 1930, **44**, 330-339.
- [12] Cf., en ce qui concerne la cortisone, A. DELAUNAY. *Presse Méd.*, 1951, **59**, 1455-1458.

MÉTABOLISME DES ACIDES AMINÉS ET DES AMIDES PAR LES BACTÉRIES SULFATO-RÉDUCTRICES (*)

par JACQUES-C. SENEZ.

(Centre de Recherches Scientifiques, Industrielles et Maritimes
de Marseille.)

La source d'azote dans les milieux usuels d'isolement et de culture des bactéries anaérobies sulfato-réductrices est l'azote ammoniacal (Starkey, 1948 ; Butlin, Adams et Thomas, 1949). Beijerinck (1895) et van Delden (1903) avaient cependant signalé que l'asparagine exercerait une action favorisante sur le développement de ces microorganismes et Baars (1930) a indiqué que les souches par lui étudiées étaient capables d'utiliser l'asparagine, l' α -alanine et l'acide aspartique comme supports de croissance et comme donateurs d'hydrogène pour la réduction des sulfates.

Nous avons eu l'occasion d'étudier les besoins nutritifs de 5 souches personnelles, halophiles, de *Sporovibrio desulfuricans* (« Canet » 17, 20, 32, 40 et 41) et d'une souche thermophile sporulée (T 74), qui nous a été aimablement communiquée par le professeur R. Starkey. Ces diverses souches se sont révélées incapables de se développer en milieu dans lesquels la seule source de carbone était l'un des amino-acides et amides suivants : α -alanine, asparagine, glycine, valine, acide aspartique, acide glutamique et phénylalanine. Avec la leucine seulement, on a obtenu un faible développement et une réduction partielle des sulfates présents dans le milieu (base minérale de Starkey, 1948).

Ces observations nous ont conduit à étudier de façon plus complète l'action d'une de nos souches sur les acides aminés et sur les amides, et à rechercher notamment l'existence de désaminases et de décarboxylases, ainsi que l'accumulation intracellulaire d'acides aminés libres et la présence de transaminases.

MATÉRIEL D'ÉTUDE ET MÉTHODES.

Organisme. — L'organisme étudié (« Canet » 41) est une souche halophile et mésophile de *Sporovibrio desulfuricans*. Cette

(*) Communication présentée au II^e Congrès international de Biochimie, Paris, 21-27 juillet 1952.

souche autotrophe facultative, douée d'une hydrogénase très active (Senez et Volcani, 1951), a été entretenue, depuis son isolement, par repiquages sur milieu lactate-sulfates de Starkey (1948), avec addition de 0,1 p. 100 d'extrait de levure (Difco).

Milieux de culture. — Les cultures pour l'obtention des *resting-cells* ont été réalisées sur un milieu de composition suivante :

Eau distillée, 666 cm³ ; hydrolysât pancréatique de caséine, 333 cm³ ; MgSO₄.7 H₂O, 2,0 g ; Na₂SO₄, 0,5 g ; K₂HPO₄, 0,5 ; CaCl₂.2 H₂O, 0,1 g ; NaCl, 20,0 g ; pyruvate de soude, 10,0 g ; extrait de levure (Difco), 1,0 g ; pH 7,6.

A ce milieu était ajouté, dans certains cas, 1,0 g par litre de NH₄Cl.

Les cultures étaient incubées à l'étuve à 30°, sous atmosphère d'azote dépourvu d'oxygène.

Désamination et décarboxylation. — Les essais de désamination et de décarboxylation ont été réalisés dans des manomètres classiques de Warburg, à 30° et à 37°, sous atmosphère d'azote, en présence d'une quantité de substrat uniformément fixée à 30 μ M par manomètre.

Les bactéries étaient récoltées après des durées variables d'incubation (vingt-huit et trente-huit heures), puis lavées une fois et remises en suspension dans une solution de NaCl à 0,9 p. 100, le poids sec de corps bactériens employé variant entre 5,0 et 11,0 mg par manomètre.

D'une manière générale, les expériences ont été effectuées à pH 7,6, en présence de tampon phosphatique 0,033 M. Dans un cas, cependant, afin de s'assurer que la décarboxylation n'était pas inhibée par ce pH relativement alcalin, la culture a été, au bout de vingt-quatre heures d'incubation, acidifiée à pH 5,0 avec une solution stérilisée d'acide acétique. Après trois heures d'incubation sous ces nouvelles conditions, les bactéries ont été récoltées et introduites dans les manomètres en présence de tampons acides de Mac Ilwaine (1921), dans les conditions de pH optima pour la décarboxylation de chacun des substrats, c'est-à-dire : pH 4,0 pour l'histidine, 4,5 pour l'acide glutamique, 5,0 pour l'arginine, la lysine et l'acide aspartique, 5,5 pour l'ornithine et la tyrosine, 7,6 pour la leucine.

Les systèmes manométriques ont été observés durant soixante à quatre-vingts minutes, afin de noter une modification éventuelle du volume gazeux, puis la réaction a été arrêtée par introduction de 0,1 cm³ de H₂SO₄ à 10 p. 100, et l'ammoniaque dosée colorimétriquement par le réactif de Nessler, après entraînement du contenu des manomètres par la vapeur en milieu alcalin.

Recherche des acides aminés libres. — 2 cm³ de suspension

bactérienne, soit 28,0 mg de corps microbiens (poids sec), ont été portés dix minutes dans un bain-marie bouillant, puis conservés à -15° pendant quarante et une heures. La suspension a été alors centrifugée et le liquide surnageant recueilli.

Une deuxième fraction de 2,5 cm³ de la même suspension bactérienne (35,0 mg de corps bactériens, poids sec) a été lavée une seconde fois dans une solution de NaCl à 0,9 p. 100 et le culot de centrifugation remis en suspension dans 5,0 cm³ d'éthanol à 70 p. 100. La suspension alcoolique a été abandonnée à la température du laboratoire pendant quarante et une heures, puis centrifugée, et le culot remis en suspension dans trois volumes de chloroforme. L'extrait chloroformique a été recueilli par centrifugation.

Dans ces extraits aqueux et chloroformique, les amino-acides ont été recherchés par chromatographie sur papier (phase mobile : *n*-butanol-acide acétique).

Transamination. — A partir de 1 l de culture âgée de 29 heures, on a obtenu, suivant la technique utilisée par Gale (1948) pour la préparation de l'arginine décarboxylase, 201 mg de poudre acétonique qui ont été remis en suspension dans 8,0 cm³ de tampon phosphatique 0,033 M à pH 7,5 et maintenus en contact trois heures à la température du laboratoire. Cette préparation a été purifiée par dialyse en sac de cellophane, pendant trois heures, contre de l'eau distillée à 0°, puis conservée vingt-quatre heures à -15° .

La transamination a été effectuée dans une série de tubes à essai contenant 0,5 cm³ de préparation enzymatique, 0,4 cm³ de tampon phosphatique à pH 7,5, 0,1 cm³ d'acide α -céto-glutarique 0,3 M et 0,1 cm³ d'acide aspartique ou d' α -alanine 0,3 M. La série comprenait des tubes témoins dans lesquels était omis soit l'acide, soit le céto-acide, et enfin un témoin contenant l'enzyme seul.

Ces différents systèmes ont été laissés en contact à 37° pendant deux heures et la réaction a été arrêtée en portant les tubes trois minutes dans un bain-marie à 100°. Après vingt-quatre heures de conservation à -15° , le contenu des tubes a été centrifugé et le liquide clair surnageant a été chromatographié sur papier (phase mobile : eau-phénol), suivant la technique indiquée par Feldman et Gunsalus (1950).

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX.

Avec la souche étudiée et dans les conditions expérimentales qui viennent d'être décrites, on n'a pas constaté de décarboxylation ni de désamination des amino-acides et amides suivants : acide aspartique, acide glutamique, α -alanine, arginine, glycine.

histidine, iso-leucine, leucine, lysine, ornithine, phénylalanine, proline, sérine, tyrosine, valine, asparagine et glutamine. On n'a pas obtenu, non plus, de réactions de désamination couplée, type Stickland, avec les systèmes arginine-acide glutamique et glycine-leucine.

Les tentatives faites pour déceler l'accumulation intracellulaire d'acides aminés libres sont également demeurées négatives.

Par contre, l'analyse chromatographique a montré que les poudres acétoniques contiennent des transaminases actives, transférant sur l'acide α -céto-glutarique, avec formation d'acide glutamique, la fonction amine de l'acide aspartique ou de l' α -alanine. Ces processus de transamination n'ont pas été étudiés quantitativement; toutefois, l'examen qualitatif des chromatogrammes indique que le système aspartique- α -céto-glutarique est plus actif que le système α -alanine- α -céto-glutarique.

Ces résultats confirment la très large répartition des transaminases bactériennes déjà mises en évidence par Feldman et Gunsalus (1950) dans des groupes bactériens très divers et très différents. En outre, la possession de transaminases par notre souche de *Sporovibrio desulfuricans* est un fait d'autant plus intéressant que cet organisme autotrophe facultatif s'est révélé, par ailleurs, incapable de décarboxyler ou de désaminer un grand nombre d'amino-acides et d'amides, et notamment l'acide aspartique, l' α -alanine et l'acide glutamique, c'est-à-dire les acides aminés entre lesquels s'opèrent les processus de transamination.

Il semble donc qu'il faille considérer la transamination comme une fonction plus générale encore et plus essentielle au métabolisme bactérien que ne le sont la décarboxylation et la désamination.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS.

1° L'étude d'une souche de *Sporovibrio desulfuricans* a montré que les *resting-cells* de cet organisme ne peuvent désaminer ni décarboxyler les nombreux amino-acides et amides essayés. On n'a pas observé, non plus, de réaction de Stickland, ni d'accumulation intracellulaire d'acides aminés libres.

2° Les poudres acétoniques préparées avec le même organisme contiennent des transaminases qui transforment l'acide α -céto-glutarique en acide glutamique, à partir de l' α -alanine ou de l'acide aspartique.

Ce travail a été réalisé au cours d'un séjour à Cambridge dans le laboratoire du Dr E. F. Gale, à qui nous tenons à exprimer notre vive gratitude pour son accueil et pour ses précieux conseils.

BIBLIOGRAPHIE

- J. K. BAARS. « Over sulfaatreductie door bacterien ». Thèse, Delft, 1930, 164 pages.
- M. W. BEIJERINCK. *Zentrabl. Bakt.*, II Abt., 1904, **1**, 1, 49, 104.
- K. R. BUTLIN, M. E. ADAMS et M. THOMAS. *J. Gen. Microbiol.*, 1949, **3**, 46.
- A. VAN DELDEN. *Zentrabl. Bakt.*, II Abt., 1904, **11**, 81, 113.
- L. I. FELDMAN et I. C. GUNSALUS. *J. Biol. Chem.*, 1950, **187**, 821.
- E. F. GALE. *Eiweiss Forschung*, 1948, **4**, 145.
- T. L. MC ILWAIN. *J. Biol. Chem.*, 1921, **49**, 183.
- J. SENEZ et B. E. VOLCANI. *C. R. Acad. Sci.*, 1951, **232**, 1035.
- R. L. STARKEY. *J. Am. Water Works Assoc.*, 1948, **40**, 1291.

ETUDE DU NUOC-MAM PAR MICROCHROMATOGRAPHIE

par JUDITH BLASS

avec la collaboration de CLAUDE RICHARD.

(Institut Pasteur. Service du Professeur MACHEBOEUF.)

Le Nuoc-Mam est une solution d'hydrolysats de poissons riche en sel qui constitue non seulement un condiment, mais un aliment azoté important pour les populations dans le sud-est de l'Asie.

L'étude chromatographique détaillée des amino-acides présents dans le Nuoc-Mam n'a pas été effectuée, à notre connaissance, jusqu'ici ; nous l'avons entreprise.

Des difficultés dues à la forte teneur en chlorure de sodium du Nuoc-Mam se sont présentées ; nous avons pu les surmonter facilement. Nous présentons seulement ici un exemple d'étude d'un échantillon obtenu dans le commerce, à Paris. Comme des différences importantes peuvent exister entre les diverses préparations du Nuoc-Mam, notre étude pourra servir seulement de base à des recherches d'ensemble qui pourraient être effectuées éventuellement sur les lieux mêmes de production.

L'échantillon que nous avons étudié contenait pour 100 ml :

	GRAMMES
Azote total	1,24
Azote ammoniacal	0,38
Azote aminé + azote ammoniacal (titrage selon Soerensen)	0,95
Azote aminé (par différence)	0,57
Chlorure de sodium	28

Essais de chromatographie directe du Nuoc-Mam sans élimination préalable du sel. — Nous avons tenté tout d'abord de soumettre à la chromatographie sur papier le liquide tel quel.

On utilise, pour la chromatographie à une dimension, des volumes correspondant à des quantités variant de 8,5 µg à 17 µg d'azote aminé ; pour la chromatographie à deux dimensions, les quantités sont doubles.

Si l'on dépose 17 µg d'azote aminé en chromatographie à une dimension, on dépose en même temps 840 µg de sels. A cause de la présence de cette quantité excessive de sels, les amino-acides qui se trouvent dans la partie correspondant au quart inférieur du chromatogramme se séparent mal et leurs spots

présentent des trainées. Lorsqu'on effectue une chromatographie à deux dimensions, on observe près de l'origine, une ou deux zones larges diffuses (contenant les sels) qui se colorent en violet par la ninhydrine, cependant que la plupart des amino-acides se séparent relativement bien. Ceci prouve que la chromatographie d'une partie des amino-acides est troublée par les sels.

Voici le schéma d'un chromatogramme de Nuoc-Mam non dessalé correspondant à 34 μ g d'azote aminé (6 microlitres).

Afin d'obtenir des chromatogrammes plus nets pouvant servir

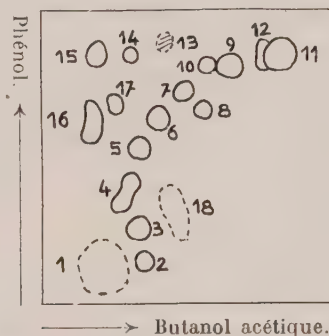


FIG. 1. — 1, tache diffuse; 2, acide aspartique; 3, acide glutamique; 4, sérine + glycocholate; 5, thréonine; 6, alanine; 7, acide α -aminobutyrique; 8, tyrosine; 9, valine; 10, tache inconnue; 11, leucine; 12, phénylalanine; 13, proline; 14, acide γ -aminobutyrique; 15, méthionine sulfoxyde; 16, lysine; 17, arginine; 18, tache diffuse.

également à une détermination quantitative, nous avons procédé à un dessalage du Nuoc-Mam.

ELIMINATION DES SELS AVANT LA CHROMATOGRAPHIE.

Le Nuoc-Mam ne contient pas de protéines. Nous n'avons pas non plus trouvé de peptides révélables à la ninhydrine et les chromatogrammes après hydrolyse présentent le même aspect que celui du Nuoc-Mam avant hydrolyse. Le problème du dessalage est donc relativement simple.

Nous avons cherché à précipiter les sels tout en conservant les amino-acides en solution. Parmi divers solvants essayés, c'est l'acétone chlorhydrique qui précipite le mieux les sels en dissolvant les amino-acides. Pour maintenir ceux-ci en solution, il a fallu utiliser un grand excès d'acétone, car si l'on employait seulement, par exemple, 10 volumes d'acétone chlorhydrique pour 1 volume de Nuoc-Mam, on ferait précipiter une notable partie des amino-acides.

Voici la technique de dessalage que nous avons mise au point. Le Nuoc-Mam est dilué au 1/20 par de l'eau. On prélève 1 ml de ce liquide que l'on additionne de 50 ml d'acétone contenant 1 p. 100 de HCl 10 N. On centrifuge, on lave le précipité deux fois avec un peu d'acétone chlorhydrique, on évapore l'acétone et l'acide chlorhydrique par distillation sous vide. On améliore l'élimination de l'acide chlorhydrique en reprenant le résidu sec à deux reprises par un peu d'eau et en distillant à nouveau. On reprend finalement le résidu sec par 0,2 ml d'eau. On a ainsi une solution extrêmement pauvre en sels, prête à la chromatographie. 1 ml de cette solution correspond à 0,25 ml de Nuoc-Mam.

Nous avons dosé l'azote dans la solution ainsi obtenue et nous avons retrouvé tout l'azote contenu dans le Nuoc-Mam. Nous pouvons ainsi effectuer, non seulement une analyse qualitative des amino-acides, mais également une analyse quantitative.

I. — ANALYSE QUANTITATIVE.

Nous avons effectué toute une série de chromatographies à une et deux dimensions en utilisant le système des témoins internes et externes de façon à identifier d'une façon certaine chacune des taches visibles des chromatogrammes.

Les solvants utilisés pour la chromatographie à une direction étaient :

1° Butanol.	125 ml
Eau	125 ml
Acide acétique	30 ml

2° Phénol saturé d'eau + 0,1 p. 100 de NH₃.

3° Collidine + lutidine à volumes égaux, saturés d'eau.

4° Alcool iso-amylque tertiaire en présence de vapeurs de diéthylamine.

Pour la chromatographie à deux directions :

1° a) phénol saturé d'eau + 0,1 p. 100 de NH₃.

b) butanol acétique.

2° a) phénol saturé d'eau + 0,1 p. 100 de NH₃.

b) collidine + lutidine à volumes égaux saturés d'eau.

Les quantités utilisées pour la chromatographie variaient de 4,2 µg à 42,7 µg d'azote aminé.

Voici, à titre d'exemple, une photographie d'un chromatogramme à deux directions obtenu avec 18 microlitres de la solution dessalée (soit 4,5 microlitres de Nuoc-Mam contenant 25,6 µg d'azote aminé) déposés par gouttes de 3 ml en six fois. (Papier Whatman, n° 1, système ascendant) [fig. 2].

La présence des acides α - et γ -aminobutyrique fut seulement admise d'après les positions caractéristiques des spots. L'identité de tous les autres amino-acides fut confirmée par l'utilisation des témoins internes ou externes. On constate, à gauche de la

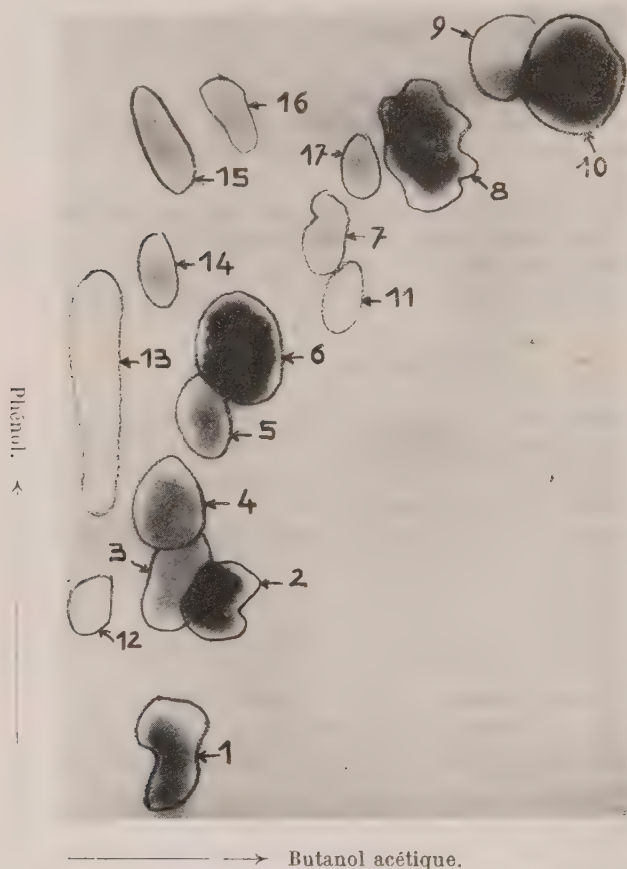


FIG. 2. — On voit sur la photographie les aminoacides suivants : 1, acide aspartique; 2, acide glutamique; 3, sérine; 4, glycocolle; 5, thréonine; 6, alanine; 7, acide α -aminobutyrique; 8, valine; 9, phénylalanine; 10, leucine; 11, tyrosine; 12, cystine; 13, lysine; 14, arginine; 15, méthionine sulfoxyde; 16, acide γ -aminobutyrique.

valine, une tache non identifiée (tache 17). Il ne s'agit pas d'un peptide, car cette tache persiste après hydrolyse. S'agirait-il de l'acide 5-aminopentanoïque que certaines bactéries (diverses espèces de *Clostridium*) produisent aux dépens de la proline [1] ? Cet acide a une mobilité voisine de la valine dans le butanol

acétique d'après Woiwood [2]. Nous n'avons pas encore pu le confirmer car nous n'avions pas d'acide 5-aminopentanoïque pour réaliser les essais de contrôle.

Nous donnons ci-dessous, à titre d'exemple, deux schémas de chromatogrammes à une direction, l'un effectué avec le solvant butanol acétique et l'autre avec le phénol, correspondant chacun à 2,5 microlitres de Nuoc-Mam (14 μg d'azote aminé) [fig. 3 et 4].

On a utilisé dans les deux cas le système descendant à écoulement libre, d'après Jermyn et Isherwood [3] (papier What-

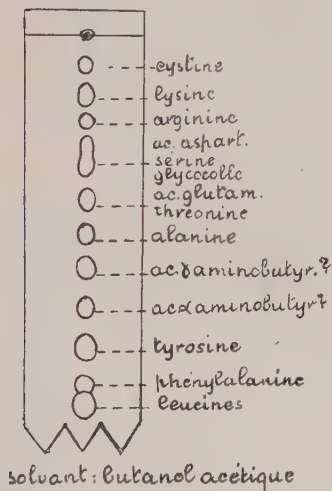


FIG. 3.

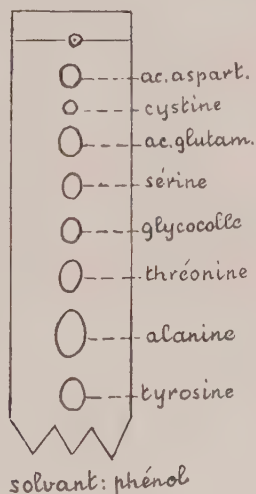


FIG. 4.

man n° 4). Durée du cheminement: vingt-quatre à quarante-huit heures. On voit sur la figure 4 que les amino-acides plus rapides que la tyrosine, ont déjà quitté le papier. Ceci a été fait à dessein car tous ces amino-acides (valine, leucine, phénylalanine, lysine, arginine et histidine) ont des R_f très rapprochés dans le phénol et se séparent mal. L'élongation du chromatogramme a permis une très bonne séparation de tous les autres amino-acides.

RECHERCHES SPÉCIALES.

Proline. — La proline donne, avec la ninhydrine, une tache jaune à peine visible, même si l'on utilise un volume de Nuoc-Mam correspondant à 43 μg d'azote aminé. Pour mettre en

évidence la présence de la proline et pour pouvoir la doser éventuellement, nous avons donc utilisé un autre révélateur plus sensible que la ninhydrine (donnant des taches bleues avec la proline) :

Isatine à 0,2 p. 100 dans le butanol normal + 4 p. 100 d'acide acétique. Ce révélateur fut préconisé par Acher, Fromageot et Jutish [4]. Nous avons ainsi pu mettre en évidence la présence de la proline (0,7 μ g) dans un volume de Nuoc-Mam correspondant à 7,0 μ g d'azote aminé (solvant butanol acétique).

Tryptophane. — Même en utilisant des volumes de Nuoc-Mam correspondant à 43 μ g d'azote aminé en chromatographie bidimensionnelle, avec la ninhydrine comme révélateur, on ne voit pas de tache de tryptophane. Cependant, lorsqu'on utilise le réactif de Ehrlich comme révélateur, on voit apparaître une tache de tryptophane correspondant à 1,25 μ g de tryptophane déjà pour une prise d'essai de Nuoc-Mam correspondant à 14 μ g d'azote aminé.

Voici la technique que nous avons utilisée [5].

Une solution à 5 p. 100 dans l'alcool de paradiméthylaminobenzaldéhyde additionnée de 1 ml de HCl pour 100 ml est pulvérisée sur le papier. On laisse le chromatogramme sec dans une atmosphère d'acide chlorhydrique pendant quelques heures. On voit apparaître des taches bleues pour le tryptophane.

Leucine-isoleucine. — La leucine et l'isoleucine forment un seul spot dans la plupart des solvants. Pour mettre en évidence l'isoleucine à côté de la leucine, nous avons utilisé la méthode préconisée par E. Work [6] : solvant : alcool iso-amylque tertiaire en présence de vapeurs de diéthylamine, système descendant à écoulement libre. Papier Whatman n° 1. Durée du cheminement : cinq jours.

On voit sur les chromatogrammes de Nuoc-Mam, les deux taches d'isoleucine et leucine correspondant à celles des témoins (fig. 5).

Histidine. — Lorsqu'on utilise les solvants phénol et butanol en chromatographie bidimensionnelle, l'histidine se sépare souvent mal de la lysine, cependant, avec les solvants phénol et collidine, la séparation est bonne. Pour rechercher et doser l'histidine, nous avons donc utilisé ces deux derniers solvants, mais même en utilisant des prises d'essai correspondant à 43 μ g d'azote aminé, nous n'avons pas pu déceler la tache d'histidine révélabale avec la ninhydrine. Nous avons donc eu recours à un réactif plus sensible que la ninhydrine vis-à-vis de l'histidine : le réactif de Pauly (acide sulfanilique diazoté) d'après Consden [7] et Dent [8]. On effectue une chromatographie à une dimension en utilisant la collidine. Après avoir séché le chromatogramme, on le lave avec de l'acétone et on sèche à nouveau.

On pulvérise le réactif de Pauly (1). L'histidine apparaît aussitôt en rouge sur le chromatogramme mouillé. Le réactif de Pauly permet de déceler un microgramme d'histidine.

Même en utilisant des prises d'essai correspondant à 43 μg d'azote aminé, nous n'avons pas pu déceler l'histidine avec ce réactif.

Nous avons, par contre, décelé une tache rouge dont la position correspond à celle de l'histamine. (L'histidine et l'histamine se

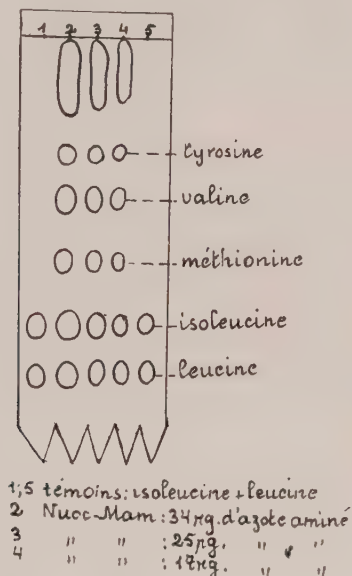


FIG. 5.

séparent parfaitement bien, l'histamine cheminant environ 1,4 fois plus vite que l'histidine).

Pour pouvoir affirmer définitivement la présence de l'histamine, il faudrait des essais biologiques après élution que nous n'avons pas réalisés.

(1) Voici le mode de préparation du réactif de Pauly :

On mélange 100 ml d'acide sulfanilique à 1 p. 100 dans HCl normal avec 10 ml de solution de nitrite de sodium à 5 p. 100 en refroidissant dans la glace et en agitant pendant cinq minutes.

On mélange 5 ml de cette solution avec 40 ml d'une solution de carbonate de sodium à 6 p. 100. On obtient ainsi une solution d'acide sulfanilique à 0,1 p. 100 dans du carbonate de sodium normal.

II. — ANALYSE QUANTITATIVE.

Pour effectuer une analyse semi-quantitative des divers amino-acides dans le Nuoc-Mam, nous avons eu recours à la méthode de Polson [9] qui consiste à comparer les taches données par diverses concentrations de la solution à analyser avec les taches données par diverses concentrations des solutions témoins, en cherchant des taches ayant même intensité et même surface. Suivant le conseil de E. Work [6], nous avons comparé uniquement des taches correspondant à des concentrations faibles (5 μ g au maximum), car c'est seulement pour des concentrations faibles que l'on observe la proportionnalité entre l'intensité et la surface de la tache et les concentrations correspondantes en amino-acides.

On a utilisé, pour l'analyse semi-quantitative, soit la chromatographie bidimensionnelle en comparant avec les chromatogrammes également bidimensionnels des solutions témoins, soit la chromatographie unidimensionnelle avec les solvants : 1° phénol saturé d'eau dans une atmosphère ammoniacale ; 2° butanol acétique.

La chromatographie unidimensionnelle est plus sûre, car la solution témoin se trouvant sur le même chromatogramme que la solution à analyser, les conditions sont exactement les mêmes pour les deux solutions.

Les solutions à analyser, ainsi que les solutions témoins, sont mesurées exactement à l'aide des micropipettes calibrées.

Voici les résultats obtenus en grammes pour 100 ml de Nuoc-Mam (erreur possible de 10 à 20 p. 100) :

Cystine	0,025
Acide aspartique	0,24
Acide glutamique	0,40
Sérine	0,08
Glycocolle	0,24
Thréonine	0,20
Alanine	0,42
Valine	0,30
Leucine	0,40
Isoleucine	0,40
Phénylalanine	0,15
Lysine	0,40
Arginine	0,20
Histidine	< 0,03
Proline	0,05
Tryptophane	0,05
Tyrosine	0,08
Méthionine	0,15
Acides α - et γ -aminobutyrique évalués à 0,3 g.	
Tache, 17.	

Si l'on additionne tous ces chiffres, on obtient la valeur de 4,1 g d'amino-acides contenus dans 100 ml de Nuoc-Mam.

On a obtenu, pour la valeur de l'azote aminé, 0,57 g pour 100 ml de Nuoc-Mam, qui est en bon accord avec le chiffre obtenu par dosage des acides aminés.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS.

L'étude d'un échantillon de Nuoc-Mam nous a permis de mettre au point une technique très simple permettant d'en éliminer le chlorure de sodium qui gênait la séparation quantitative des amino-acides par microchromatographie. L'échantillon étudié ne contient pas de peptide décelable sur les chromatogrammes. Nous avons pu, par contre, détecter tous les amino-acides couramment rencontrés dans les protéines, sauf l'histidine. Des essais semi-quantitatifs ont permis d'apprécier leurs proportions respectives. Nous avons, en outre, noté trois taches; nous pensons pouvoir rapporter deux d'entre elles à des produits de métabolisme bactérien : acide α -aminobutyrique, acide γ -aminobutyrique. La troisième tache ne correspond à aucun amino-acide connu (peut-être acide 5-aminopentanoïque qui serait, lui aussi, un produit d'origine bactérienne). Signalons enfin que nous avons pu détecter la présence de faibles quantités d'une substance qui est peut-être de l'histamine, mais une telle conclusion ne pourrait être affirmée qu'après des essais complémentaires qui n'ont pas encore été effectués.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] L. H. STICKLAND. *Biochem. J.*, 1935, **29**, 289.
- [2] A. J. WOJWOOD et H. PROOM. *J. Microb. Gen.*, 1950, **4**, 501.
- [3] M. A. JERMYN et F. A. ISHERWOOD. *Biochem. J.*, 1949, **44**, 402.
- [4] R. ACHER, Cl. FROMAGEOT et M. JUTISK. *Biochim. et Biophys. Acta*, 1950, **5**, 81.
- [5] J. TABONE, D. ROBERT, S. THOMASSEY et N. MAMOUNAS. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1950, **32**, 529.
- [6] E. WORK. *Biochim. et Biophys. Acta*, 1949, **3**, 400.
- [7] R. CONSDEN, A. H. GORDON et A. J. P. MARTIN. *Biochem. J.*, 1946, **40**, 33.
- [8] C. E. DENT. *Biochem. J.*, 1948, **43**, 169.
- [9] A. POLSON. *Biochim. et Biophys. Acta*, 1948, **2**, 575.

SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE MICROBIOLOGIE

(Institut Pasteur, 25, rue du Docteur-Roux, Paris, 15^e.)

Séance du 2 Octobre 1952.

Présidence de M. GASTINEL.

COMMUNICATIONS

LA RÉSISTANCE ACQUISE DU *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* A L'ÉGARD DE L'ISONICOTINHYDRAZIDE (INH)

par C. LEVADITI et J. HENRY-ÉVENO.

(Institut Alfred-Fournier.)

La présente note a pour objet quelques problèmes soulevés par l'étude de la résistance acquise de certaines souches de *Mycobacterium tuberculosis* à l'égard de l'isonicotinhydrazide (INH) *in vitro*, problèmes déjà envisagés par les chercheurs qui ont découvert les effets antibacillaires de ce dérivé, et auxquels Rist [1], en France, a consacré des investigations intéressantes (Cf. également Hobby et Lenert [2]).

A. Concentration minima du milieu (Lockman ou Dubos) en INH capable de déclencher la bactériostase dans le tube à essais (Dmb). — Cette concentration a varié selon les souches de B. K. prises en considération :

SOUCHES	Dmb
H37Rv (virulente)	0,0001 µg par cm ³ .
H 512 (virulente)	0,01 à 0,001 µg par cm ³ .
SAPC (apathogène)	25 µg par cm ³ .
607 (paratuberculeux) [3]	1 à 10 µg par cm ³ .

On voit d'après ces chiffres que les souches tuberculogènes sont plus sensibles à l'INH que celles faiblement virulentes, ou totalement apathogènes.

B. *Concentration maxima du milieu en INH compatible avec la pousse des B. K. (DMr).* — Passages fréquents en milieu Dubos contenant des concentrations croissantes d'INH. Titrages de 1/10 en 1/10, et, dans les zones limites, de 1/2 en 1/2.

1° H 512. — 13 passages successifs ; durée totale : soixante-dix-huit jours. Evolution en cinq phases. La première, d'une durée de vingt-huit jours (4 repiquages) : DMr = 0,001 μg par centimètre cube. La seconde, d'une durée de vingt-trois jours (5 repiquages) : DMr = 0,005 à 0,02 μg par centimètre cube. La troisième, d'une durée de neuf jours (deux ensemencements) : DMr = 0,5 et 5 μg par centimètre cube. La quatrième, d'une durée de dix jours (un seul passage) : DMr = 125 μg par centimètre cube. Enfin, la cinquième, d'une durée de huit jours (un seul transfert) : DMr = 500 μg par centimètre cube. On en conclura que, dans les conditions de nos essais, la résistance s'est brusquement accrue à partir de la troisième phase, passant de 5 à 125 μg , puis à 500 μg par centimètre cube. L'inoculum utilisé était de 10^{-2} . Or, selon Rist, un ensemencement plus riche que celui-ci permet d'enregistrer une insensibilité encore plus accusée. Ce fait paraît exact. En effet, avec un tel ensemencement, à l'aide d'une concentration en bactéries supérieure (10^{-1}), la résistance passe de 0,01 à 500 μg en trente-neuf jours et 4 transferts.

2° SAPC. — Inoculum de 10^{-2} . 11 passages successifs ; durée totale : soixante-dix-huit jours. Evolution en 5 phases. La première, d'une durée de quatorze jours (2 repiquages) : DMr = de 12,5 à 50 μg par centimètre cube. La seconde, d'une durée de quatorze jours (2 transferts) : DMr = 75 μg par centimètre cube. La troisième, d'une durée de vingt-huit jours (4 passages) : DMr = de 75 à 125 μg par centimètre cube. La quatrième, d'une durée de quatorze jours (2 repiquages) : DMr = 200 μg par centimètre cube. Enfin, la cinquième, d'une durée de huit jours (1 ensemencement) : DMr = 500 μg par centimètre cube. Il en résulte que l'état réfractaire à l'égard de l'INH de la souche de B. K. non pathogène SAPC atteint dès le quatrième transfert une intensité assez considérable, qui passe ensuite rapidement de 75 à 200 et 500 μg par centimètre cube.

C. *Les souches de B. K. résistantes à la streptomycine se révèlent-elles sensibles à l'INH ?* — Selon nos essais, qui confirment ceux de nos prédécesseurs, la Dmb de l'INH à l'égard d'une souche de *Mycobacterium tuberculosis* résistante à la streptomycine (H37RvR) est de 0,0001 μg par centimètre cube ; elle est donc identique à celle correspondant à la souche normale (H37Rv). L'INH agit donc sur les B. K. streptomycino-résistants.

D. *La souche de bacilles H 512, devenue résistante à l'INH, l'est-elle également à l'égard de la streptomycine ?* Le problème a été posé et résolu négativement par Rist (*loc. cit.*). L'auteur s'exprime ainsi : « Les souches INH-résistantes sélectionnées *in vitro* sont normalement sensibles à la streptomycine, au PAS, aux sulfones et au Tbl, et réciproquement les souches résistantes à l'un ou plusieurs de ces produits sont sensibles à l'INH ». Voici les résultats de nos quatre essais similaires ;

1° Souche de B. K. H 512, résistante à l'INH (DMr = 5 μg par centimètre cube).

Dmb	{ Souche normale	0,1 μg par cm^3
(streptomycine).	{ Souche résistante	0,1 μg par cm^3

2° Souche de B. K. H 512, résistante à l'INH (DMr = 125 μg par centimètre cube).

Dmb	{ Souche normale	0,1 μg par cm^3
(streptomycine).	{ Souche résistante	10 μg par cm^3

Il en ressort que la souche de B. K. H 512, rendue fortement résistante à l'INH (DMr = 125 μg par centimètre cube), acquiert un état réfractaire manifeste à l'égard de la streptomycine (Normale : Dmb = 0,1 μg par centimètre cube ; résistante : Dmb = 10 μg par centimètre cube).

Rist (*loc. cit.*), ayant constaté une diminution du taux des bacilles tuberculeux chez les souris traitées par l'INH, se demande « si cette diminution n'est pas due à une perte de l'acido-résistance de ces bacilles. En effet, *in vitro* (en milieu de Youmans et Dubos), une culture en pleine croissance perd son acido-résistance en vingt-quatre heures au contact de 0,15 μg d'INH par centimètre cube. Les bacilles, après coloration au Ziehl, apparaissent comme de fins bâtonnets bleus et granuleux. Les germes résistants à l'INH échappent à cette altération ». Nous avons répété ces essais avec les souches H37Rv et H 512, normales et résistantes à la streptomycine, ainsi qu'une souche réfractaire à l'INH. L'épreuve a été effectuée en présence de 0,15 et 0,30 μg d'INH par centimètre cube (temps d'incubation en milieu Dubos : vingt-quatre heures, et trois jours). Dans ces conditions, seuls les B. K. de la souche H 512 sensible ont présenté une légère perte de leur acido-résistance (50 p. 100 environ), les autres souches bacillaires ayant conservé leurs propriétés initiales. L'absence de *Mycobacterium tuberculosis*, ou sa paucibacillose dans le poumon de souris traitées par des doses efficaces d'INH sont donc réelles et ne sauraient être attribuées à une atténuation de l'acido-résistance des germes.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] RIST. *Presse médicale*, 1952, **60**, 806 ; ces *Annales*, 1952, **82**, 752.
- [2] HOBBY et LENERT. *Amer. Rev. Tuberc.*, 1952, **65**, 771.
- [3] C. LEVADITI, VAISMAN et LÉVY. La virulence de cette souche de B. K. 607 a fait l'objet d'une note antérieure. *C. R. Acad. Sci.*, 1949, **228**, 1610.

PROTECTION PAR LA STREPTOMYCINE, L'I.N.H. ET LE P.A.S. DU COBAYE TUBERCULISÉ PAR VOIE INTRA-DERMIQUE

par R. GALLAND et J. MAILLET.

(Travail du Laboratoire de Bactériologie de la Faculté de Médecine
[Prof. P. GASTINEL].)

Pour apprécier et situer l'activité tuberculostatique, à court terme, *in vivo*, de différentes substances antibacillaires, nous avons adopté la technique suivante : a) tuberculisation du cobaye par voie intradermique avec une dose virulente forte ; b) traitement immédiatement institué et poursuivi pendant trois semaines ; c) bilan établi au vingt-deuxième jour sur les données cutanées, ganglionnaires et spléniques macroscopiquement évidentes.

L'inoculation intradermique a déjà été proposée par Daddi [1], Gernez-Rieux [2], pour l'étude de la streptomycino-résistance *in vivo* du B. K., sur le cobaye : avec une souche sensible à la streptomycine, aucune lésion locale n'apparaît sur l'animal traité simultanément pendant deux à trois semaines par cet antibiotique.

La voie intradermique a également été retenue pour notre technique, en raison du caractère particulièrement *régulier*, facile à *systématiser*, des lésions expérimentales provoquées dans les délais choisis, ce qui permet d'expérimenter sur un nombre *restreint* d'animaux.

Nous rapportons ici le protocole que nous suivons, en général, et les résultats obtenus, en particulier, avec l'INH et le PAS, comparativement avec la streptomycine, utilisée systématiquement à titre d'*étalon* dans l'épreuve.

PROTOCOLE. — Les cobayes (de 350 g environ), à pelage *clair*, reçoivent dans la peau du flanc droit une injection de 2/10 de centimètre cube d'une culture homogène de bacilles virulents (souche Dupray S) titrant 0,5 mg en poids bacillaire.

Les animaux sont répartis par lots de 6, comprenant systématiquement : 1 lot témoin (non traité) et 2 lots traités par la streptomycine à dose forte (42 mg/kg) et à dose moyenne (30 mg/kg).

Le traitement est institué aussitôt après la tuberculisation et poursuivi pendant vingt et un jours.

Le bilan est établi au vingt-deuxième jour sur les données macroscopiques aux trois échelons lésionnels selon le schéma suivant :

Peau . . .	}	Pas d'ulcération —,
		Petit orifice fistuleux +,
		Chancre de 1 cm ++.
Ganglions .	}	Pas de ganglion —,
		Petits ganglions +,
		Gros ganglion caséeux ++.
Rate. . . .	}	Aspect normal,
		Hypertrophie sans nodules +,
		Hypertrophie avec nodules ++.

a) Les témoins présentent toujours la triade maxima (+ +) ; b) le test de protection *complète* exige la *triple négativité* lésionnelle ; c) le test de protection *partielle* est constitué par des lésions cutanéoganglionnaires *mineures* (peau +, ganglions ±) avec *intégrité splénique* (une rate classée : + faisant conclure à la *non* protection).

RÉSULTATS OBTENUS AVEC L'INH ET LE PAS, COMPARATIVEMENT AVEC LA STREPTOMYCINE. — 1° *Epreuve d'orientation*, réalisée sur un nombre très restreint d'animaux : 12 cobayes, répartis selon le schéma du *tableau I* ; elle nous a conduits aux résultats suivants : a) L'INH

TABLEAU I.

12 COBAYES 1/D	PEAU	GANGLIONS	RATE
Témoins	++	++	++
I. N. H. : 4 mg/kg <i>per os</i>	—	—	—
P. A. S. : 300 mg/kg <i>per os</i>	++	++	++

(4 mg/kg *per os*) donne une protection *complète* ; b) le PAS (300 mg/kg *per os*) ne donne *aucune* protection.

2° *Epreuve systématique* : nous rapportons ici les résultats enregistrés sur un groupe de 30 cobayes, répartis selon le schéma du *tableau II* : a) les deux *étalons* streptomycine ont donné les résultats

TABLEAU II.

30 COBAYES 1/D	PEAU	GANGLIONS	RATE
Témoins	++	++	++
Streptomycine : 42 mg/kg (2 inj. 7 500 U).	—	—	—
Streptomycine : 30 mg/kg (2 inf. 5 000 U).	+	—	—
P. A. S. { 300 mg/kg <i>per os</i>	+	+	—
{ 400 mg/kg inj.	—	—	—
I. N. H. : 1,7 mg/kg <i>per os</i>	—	—	—

prévus : à dose *forte* (42 mg/kg) : protection *complète* ; à dose *moyenne* (30 mg/kg) : protection *partielle* ; b) le PAS à dose *massive* (300 mg/kg *per os* + 400 mg/kg parentéral), donne une protection *partielle* (1) ; c) l'INH à dose *réduite* (1,7 mg/kg *per os*) donne encore une protection *complète*.

(1) Il convient d'interpréter ce résultat en tenant compte du fait que l'administration *per os* du PAS (comme celle de l'INH d'ailleurs) a dû être réalisée de façon *discontinue*, en une seule ingestion par jour. De même, l'injection quotidienne parentérale de PAS (sous hyaluronidase) n'a pu être pratiquée avec la lenteur désirable.

CONCLUSIONS. — L'étude comparative de l'activité tuberculostatique à court terme *in vivo* de la streptomycine, de l'INH et du PAS, par la technique décrite, sur le cobaye tuberculisé par voie intra-dermique, nous conduit aux conclusions suivantes :

1° L'INH confirme ainsi son pouvoir tuberculostatique *initial* extrêmement *élevé* sur l'infection expérimentale du cobaye, le test de protection *complète* pouvant être obtenu par l'administration *per os* d'une dose extrêmement *réduite*, plus de vingt fois inférieure à la dose étalon de streptomycine d'activité comparable.

2° Le PAS n'affirme, au contraire, son action tuberculostatique qu'avec une dose *massive* (administrée en l'occurrence en associant la voie *per os* et la voie parentérale) ; le test de protection *partielle* obtenu est du même ordre que celui correspondant à la dose moyenne étalon de streptomycine. Il convient en outre de noter que cette action du PAS, compte tenu de l'évolution des lésions locales constatées pendant l'expérimentation, ne se manifeste pas d'emblée, mais *secondairement*, à partir du quinzième jour.

3° Les résultats enregistrés avec ces deux substances antibacillaires, d'activité aussi différente, par le *test rapide et systématisé* que nous utilisons, souligne son intérêt pratique comme *épreuve préliminaire de sélection* pour l'étude d'un tuberculostatique actif *in vivo*.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] DADDI et LUCCHESI. *Ann. Inst. Carlo Forlanini*, 1948, XI-III.
[2] GERNEZ-RIEUX, SEVIN et CHENET. *Rev. Tub.*, 1949, 43, 504.

ISOLEMENT DU BK DANS LES PRODUITS PATHOLOGIQUES SOUILLÉS. L'ÉPURATION MICROBIENNE RÉSOLUE PAR L'HOMOGÉNÉISATION PEPSINE-SOUDE

par P. AMBERT.

Le problème de l'élimination, dans les crachats, les liquides de lavage gastrique ou autres produits pathologiques septiques, de la flore microbienne associée au B. K., en vue de l'isolement de ce dernier par culture, a suscité de nombreuses recherches. Aucune des solutions proposées n'a, à notre connaissance, obtenu la faveur de l'ensemble des microbiologistes qui s'adressent encore, suivant leurs préférences ou leurs habitudes, à des techniques aussi différentes que variées.

C'est que le problème est complexe et difficile à résoudre.

« Quelle substance, dit Hauduroy [1] dans sa remarquable confron-

tation entre les méthodes de culture et d'inoculation, va présenter une si admirable spécificité qu'elle détruira des germes variés dont la résistance est évidemment différente aux agents chimiques, dont certains sont capsulés, d'autres pas, dont certains peuvent être sporulés, d'autres pas, la même substance devant respecter en même temps tous les bacilles tuberculeux, ne diminuer ni leur vitalité, ni leur virulence ? »

Il n'existe pas, en effet, de milieu sélectif où le bacille tuberculeux puisse se développer en prééminence sur les autres germes. Bien au contraire les milieux modernes à base d'œuf, très riches en substances nutritives, sont extrêmement favorables à la croissance des bactéries banales et la moindre souillure introduite dans un tube de culture fait perdre à peu près tout espoir de voir apparaître les colonies de B. K.

Certaines matières colorantes, telles que le vert malachite incorporé au milieu de Löwenstein, n'exercent qu'une action bactériostatique ou bactéricide médiocre sur la flore associée et ne sauraient être considérées que comme des adjuvants utiles certes, mais non sélectifs.

Aussi est-on amené à purifier les produits avant ensemencement.

Nous ne saurions passer ici en revue toutes les méthodes d'épuration proposées. Elles sont, pour la plupart, bien connues des bactériologistes. F. Tison, dans une étude systématique récente ([2] après avoir rejeté l'emploi de l'acide sulfurique, a fait une comparaison entre la soude, le phosphate trisodique, l'acide oxalique, l'acide chlorhydrique et enfin le carbonate d'ammonium. Il retient comme donnant les meilleurs résultats, la méthode de Pétroff qui consiste à traiter à 37° le produit bacillifère avec la soude à 4 p. 100. Encore ce procédé, auquel Tison a apporté d'heureuses modifications, n'assure-t-il pas une fluidification et une épuration complètes. Il ne met pas à l'abri d'un certain pourcentage de contaminations et entraîne l'obligation, pour chaque cas, d'ensemencer un grand nombre de tubes.

L'isolement du B. K., dans les crachats ou les liquides de lavage gastrique, présente en effet une double difficulté : la fluidification d'une part, la destruction de la flore accessoire d'autre part ; ces deux problèmes devant être résolus sans nuire à la vitalité du *Mycobacterium tuberculosis*.

Dans les produits pathologiques les germes banaux sont protégés par un enrobage de muco-pus qui les soustrait partiellement à l'action stérilisante des agents chimiques.

Pour être certain d'assurer une stérilisation parfaite, il faut que la fluidification soit complète. Or la soude, qui est un des bons fluidifiants connus, n'agit bien qu'à chaud, au voisinage de l'ébullition et à concentration assez forte, conditions qui sont en opposition avec la végétabilité du B. K.

A froid ou à 37° la fluidification sodique est très longue, le plus souvent incomplète, aussi est-il indispensable de triturer soigneusement le crachat au mortier stérile afin de favoriser l'action de l'alcalin.

Ces opérations entraînent la mise en service d'un matériel encombrant, coûteux, et de nettoyage délicat.

Cependant, le procédé de Pétroff, malgré ses difficultés, est encore le plus employé et conserve la faveur de la plupart des bactériologistes.

Dans des publications récentes [3, 5] nous avons montré, à propos du traitement des liquides de lavage gastrique en vue de l'isolement du B. K., que l'on pouvait réaliser l'épuration microbienne en deux temps :

1° *Un temps protéolytique*, où l'on fait agir la pepsine qui dégrade les matières protéiques : fibrine et protoplasme cellulaire.

2° *Un temps de fluidification* sodique, où le résidu de la digestion protéolytique est solubilisé par la soude diluée.

Cette méthode s'inspire du « procédé inoscopique » de Jousset. Cet auteur, comme l'on sait, utilisait la protéolyse pepsique pour libérer le B. K. des mailles du réticulum fibrineux dans les liquides d'épanchement des séreuses.

Dans le cas des crachats ou en général des produits purulents qui renferment à la fois du muco-pus et d'innombrables germes banaux, la pepsine laisse un résidu important constitué par la flore microbienne et les noyaux leucocytaires inaltérés. Si ce résidu inattaqué est repris par la soude diluée on constate qu'il y a solubilisation rapide et complète à froid.

Cette observation nous a mis sur la voie d'une méthode nouvelle d'homogénéisation des crachats et des liquides de tubage gastrique.

La fluidification ainsi obtenue est totale : si l'on se place dans le cas le plus défavorable, celui d'un crachat bacillifère très purulent par exemple, on peut constater que le résidu de centrifugation, en fin d'opérations, ne renferme pratiquement que le B. K., à l'exclusion de toute autre particule figurée.

C'est donc une *homogénéisation intégrale* qui libère le B. K. de sa gangue muco-fibrino-purulente et fait disparaître en même temps tous les germes accessoires, ainsi que le prouvent les ensemencements de contrôle.

Nous nous sommes alors posé la question de savoir si ce double traitement d'homogénéisation n'avait pas d'influence sur la végétabilité de *Mycobacterium tuberculosis*.

Il est bien connu que la soude même assez concentrée (6 p. 100) ne nuit pas au développement du bacille à condition toutefois de ne pas trop prolonger le temps de contact. Mais quelle peut être l'action de la pepsine en milieu acide sur la vitalité du B. K.

Une Américaine, Virginia M. Schwarting [4] a montré que la plupart des sucs gastriques naturels exercent une action inhibitrice notable sur le développement de *M. tuberculosis*, action liée d'ailleurs au temps de contact et à la température, les temps adoptés pour ses expériences se situant autour de quarante-huit heures. Cet auteur a constaté toutefois que les liquides gastriques, réalisés artificiellement à partir d'acide chlorhydrique et de pepsine, ne présentaient pas ce même pouvoir bactéricide.

Dans les conditions expérimentales que nous avons adoptées (pH voisin de 4,6 ; T = 36° ; temps = trois à cinq heures), nous n'avons pas constaté de pouvoir inhibiteur de la vitalité du B. K. Si le produit traité est franchement bacillifère, crachat présentant 1 à 2 bacilles par champ par exemple, les colonies sont luxuriantes, d'apparition précoce : sept à huit jours sur le milieu de Jensen-Holm. Dans des essais pratiqués avec des produits paucibacillaires, cas de malades en trai-

tement, dans les crachats ou les liquides de tubage desquels aucun bacille n'avait été mis en évidence par le microscope, nous obtenons facilement des cultures positives.

Il est certain, néanmoins, que pour déterminer d'une façon précise l'action de la pepsine sur la vitalité du B. K., une étude systématique approfondie est nécessaire, étude basée sur la connaissance du nombre de germes au départ et numération des colonies obtenues. Ce sera l'objet de préoccupations ultérieures.

Quoi qu'il en soit, les résultats acquis sont dès maintenant encourageants et supérieurs, semble-t-il, à ceux de la méthode de Pétroff. L'épuration microbienne est, en particulier, complète au point de ne souiller jamais aucun tube de culture par des bactéries.

Nous prenions, au début de notre expérimentation, la précaution de neutraliser la soude avant ensemencement comme il est classique de le faire. Nous avons pu vérifier par la suite que cette neutralisation n'est pas indispensable. En effet, après solubilisation du résidu protéolytique par la lessive de soude à 1 p. 100, celle-ci est diluée avec deux parties d'eau, ce qui ramène son titre à 0,33 p. 100. Le culot étant égoutté soigneusement avant ensemencement, c'est donc finalement une infime quantité d'alcalin qui est apportée sur le milieu de culture, surtout si l'on tient compte que la « goutte » de culot est encore dispersée dans l'eau de condensation du tube.

Quant aux précautions densimétriques qu'on ne doit jamais perdre de vue lorsqu'on veut collecter le B. K. par centrifugation, elles sont respectées tout au long des opérations de fluidification. Dans le premier temps, aucun électrolyte n'est ajouté pouvant modifier la densité.

Dans le deuxième temps, la concentration en lessive de soude est ramenée, comme nous l'avons dit, de 1 p. 100 à 0,33 p. 100 (densité 1008), la densité du B. K. étant plus élevée et variant selon Philibert de 1010 à 1080.

Nous allons exposer maintenant pour chaque produit pathologique les techniques proposées.

Liquides de lavages gastriques (150 à 200 cm³ de liquide) :

1° Prendre le pH du liquide et acidifier nettement, s'il y a lieu, à pH 4,6 avec de l'acide chlorhydrique normal. Ajouter 0,10 g de poudre de pepsine officinale (1), agiter soigneusement pour bien répartir le ferment et laisser ensuite au repos dans l'étuve à 37°, sans aucune agitation, durant trois à cinq heures suivant la teneur en muco-pus.

2° Toujours sans agiter, aspirer à la trompe la majeure partie du liquide au moyen d'un siphon d'Ambard dont la crosse doit buter contre le fond du flacon et l'orifice d'aspiration déboucher dans la partie moyenne, jusqu'à ce qu'il ne reste plus que 40 cm³ environ de liquide dans le flacon.

3° Agiter fortement le liquide restant pour bien l'homogénéiser et en remplir un tube à centrifuger à vis de 45 cm³ que l'on fait tourner à 3 000-4 000 t/m durant vingt minutes.

(1) On peut aussi employer la pepsine liquide, qui est d'un maniement plus commode et dont la conservation est meilleure

4° Aspirer le liquide surnageant au siphon d'Ambard. Sur le culot, ajouter 15 cm³ de lessive de soude à 1 p. 100 dont on imprègne bien toute la partie du tube ayant été au contact du liquide gastrique. Dissocier jusqu'à solubilisation complète avec un agitateur à bourrelet qui restera dans le tube durant son séjour d'une demi-heure à l'étuve à 37°.

5° Compléter le plein du tube avec 30 cm³ d'eau distillée stérile. Agiter soigneusement. Retirer l'agitateur. Boucher avec le capuchon à vis. Centrifuger à 3 000-4 000 t/m durant trente minutes.

6° Enlever complètement le liquide surnageant par renversement prudent du tube et, sans redresser, recueillir le culot dans l'effilure d'une pipette Pasteur. Pratiquer les frottis et les ensemencements.

Crachats (ou pus) : Dans un tube à centrifuger à vis de 45 cm³, introduire 3 à 5 cm³ de crachats. Ajouter 25 à 30 cm³ d'eau distillée acidifiée par I à II gouttes d'acide chlorhydrique pur, puis 0,10 g de pepsine officinale. Dissocier le mieux possible avec un agitateur et porter à l'étuve à 37° durant trois à cinq heures, suivant la purulence du crachat en agitant fréquemment. Terminer comme ci-dessus à partir du 3°.

Urines : Centrifuger l'urine pour collecter le pus qu'elle peut renfermer. Après élimination de l'urine surnageante, traiter le culot comme s'il s'agissait d'un crachat.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] P. HAUDUROY. *Ann. Biol. clin.*, 1950, **1**, 38.
- [2] F. TISON. *Ces Annales*, 1951, **80**, 659.
- [3] P. AMBERT. *Ann. Biol. clin.*, 1951, 7-8-9, 405.
- [4] Virginia M. SCHWARTING. *Amer. Rev. Tuberc.*, 1948, **58**, 123.
- [5] P. AMBERT. *Ann. Biol. clin.*, 1952, n° 5-6, p. 301.

MISE EN ÉVIDENCE *IN VITRO* DE LA « NON VIRULENCE » DE GERMES A.A.R. PAR UNE RÉACTION AU BLEU DE NIL

par JEAN DESBORDES.

(Hôpital Bichat, Laboratoires du Service du D^r Jean Paraf,
subventionné par l'I. N. H. [Prof. BUGNARD].)

Poursuivant notre étude au sujet de la différenciation des germes A. A. R., au point de vue de l'aptitude pathogène vis-à-vis du cobaye, par des réactions *in vitro*, nous avons mis au point, avec Etienne Fournier et Charles Guyotjeannin, une nouvelle réaction colorée utilisant un colorant basique métachromatique : le bleu de Nil dans une zone de pH assez étroite, 10,5/11. Au contact de ce réactif et

dans les conditions expérimentales décrites ci-dessous, les bacilles « virulents » se colorent en bleu et les germes « avirulents » (type para-tuberculeux) en rose.

Technique de la réaction au bleu de Nil. — 1° La culture du bacille à étudier est mise en suspension dans l'alcool méthylique et lavée deux fois de suite par centrifugation.

2° Après élimination soignée de l'alcool méthylique et lavage, on met les bacilles en suspension dans 2 cm³ d'eau distillée.

3° On ajoute alors : a) 0,2 cm³ d'une solution à pH = 10,5/11 (solution aqueuse de carbonate de soude à saturation) ; b) 1 à II gouttes d'une solution aqueuse de bleu de Nil à 100 ml p. 1 000. A ce pH, la solution est colorée en rouge rose. On agite et on laisse sédimenter le bacille.

Lecture de la réaction. — 1° Au bout de quatre à cinq minutes, s'il s'agit de bacilles « virulents » type bacille de Koch adulte, les bacilles sont colorés en bleu franc. Le liquide surnageant se colore en bleu lilas.

Les couleurs s'affermissent dans les quinze à vingt minutes suivantes.

2° Au bout de quatre à cinq minutes, s'il s'agit de bacilles avirulents ou para-tuberculeux, les bacilles sont colorés en rose jaune, et le liquide surnageant reste coloré en rose rougeâtre.

On peut même observer une fine graduation des colorations. Les bacilles très virulents (très riches en lipides spécifiques périphériques) se colorent en bleu franc, les moins virulents [moins riches en lipides spécifiques périphériques, en particulier les bacilles jeunes ou vieux, ou altérés (antibiotiques, agents physiques, etc.)] se colorent en bleu lilas.

Les bacilles avirulents type *Mycobacterium tuberculosis* avirulents (encore riches en certains lipides périphériques, non spécifiques) se colorent en rose rouge, et les para-tuberculeux proprement dits, en rose jaune.

Nous avons examiné plusieurs dizaines de souches et jusqu'à présent nos résultats se superposent absolument à ceux obtenus avec la méthode de Dubos, au rouge neutre.

HÉMAGGLUTINATION PASSIVE D'HÉMATIES SENSIBILISÉES PAR ANTIGÈNES BRUCELLIQUES OU DES SUBSTANCES SOLUBLES SPÉCIFIQUES

par L. CARRÈRE et J. ROUX.

(Laboratoire de Microbiologie de la Faculté de Médecine
et C. R. F. O. OMS/FAO de Montpellier.)

Dans ce travail préliminaire nous relatons les premiers résultats de nos essais de diagnostic de la brucellose humaine et ovine par les techniques d'hémagglutination passive d'hématies sensibilisées, qui

sont de plus en plus utilisées, depuis la première publication de Middlebrook [4].

On connaît toute la valeur du séro-diagnostic de Wright pour la détection de la brucellose ; on sait néanmoins qu'il peut, comme toute épreuve biologique, présenter des déficiences qui, pour être rares, n'en doivent pas moins être dépistées ; négatif dans certains cas de brucellose avérée, faussement positif avec des sérums contenant des co-agglutinines (sérum anti-cholérique, anti-*tularensis*). Il nous a donc paru utile de rechercher si l'hémagglutination passive pouvait compenser ces lacunes.

TECHNIQUE. — Nous nous sommes inspirés de la technique récemment préconisée par Le Minor [2] pour le diagnostic de certaines infections à Entérobactéries par le test d'hémagglutination passive ; au cours de nos expériences nous avons été conduits à introduire certaines modifications.

1° SENSIBILISATION DES HÉMATIES. — Les hématies utilisées sont des hématies humaines du groupe O pour tester les sérums humains, ou des hématies de mouton pour les sérums ovins. On peut d'ailleurs utiliser les hématies de mouton avec les sérums humains, à condition de saturer au préalable les agglutinines naturelles. Les hématies sont lavées et ramenées au volume initial par suspension en eau salée.

Les substances sensibilisantes essayées sont : l'antigène glucido-lipido-polypeptidique (A. G. L.), le surnageant après centrifugation d'un vaccin antimélitensique, le surnageant après centrifugation d'une suspension de *Br. suis* utilisée comme antigène pour la réaction de Wright.

L'A. G. L. est préparé à partir d'une souche de *Br. melitensis*, le vaccin est une suspension de *melitensis*, d'*abortus* et de *suis* chauffée, l'antigène *abortus* une suspension de *Br. abortus* chauffée et formolée à 1 p. 1 000, suivant les techniques utilisées au C. R. F. O.

Nous appelons substance soluble, pour ne pas préjuger de la nature antigénique de ces substances, le surnageant obtenu après centrifugation d'une suspension de *Brucella* (vaccin ou antigène), adoptant ici la terminologie de Le Minor avec les Entérobactéries.

Les hématies (en suspension en eau salée ramenée au volume initial) sont mises en contact avec la substance sensibilisante : 0,2 cm³ d'hématies pour 10 cm³ de surnageant ou d'A. G. L. Après deux heures de contact à 37°, les hématies sont lavées soigneusement et remises en eau salée pour obtenir une suspension à 1 p. 100.

2° RÉACTION. — Les sérums sont inactivés par chauffage à 56° pendant trente minutes.

Chaque sérum est ensuite réparti et dilué dans 6 tubes à raison de 0,2 cm³ de dilution par tube : on part, dans le premier tube, de la dilution à 1/2, deuxième tube 1/4, ainsi de suite jusqu'à 1/64. On ajoute alors dans tous les tubes 0,4 cm³ d'hématies sensibilisées à 1 p. 100. La dilution finale, lorsque les globules ont été ajoutés, va de 1/6 à 1/192.

Les tubes mis à l'étuve pendant une heure, sont, ensuite, laissés

à la température du laboratoire, pendant douze heures environ ; la lecture est facile : nous notons par le chiffre 2 une agglutination totale, par le chiffre 1 une agglutination partielle et par 0 une agglutination nulle.

Dans ces essais préliminaires, pour chaque sérum, il a été effectué quatre réactions et un témoin avec les globules non sensibilisés :

Réaction avec les globules sensibilisés par le surnageant du vaccin ;

Réaction avec les globules sensibilisés par l'antigène glucido-lipidique ;

Réaction avec les globules sensibilisés par le surnageant de l'antigène ;

Une réaction de Wright (technique du C. R. F. O.).

3° RÉSULTATS. — La lecture de la réaction, après une heure d'étuve, ne donne aucun résultat valable. Seule est intéressante la lecture faite, après douze heures, à la température du laboratoire.

1° *Sérums humains*. — Sérums positifs :

	WRIGHT	VACCIN	A. G. L.	ANTIGÈNE	TÉMOIN
Sérum 1	++ 1/320	221 111	222 211	111 111	000 000
Sérum 2	+++ 1/80	221 110	221 100	211 110	100 000
Sérum 2248	1/5 000	222 222	222 222	002 222	000 000
2249	1/160	221 110	211 110	111 100	100 000
R	1/80	211 100	210 000	211 000	000 000

Sérums négatifs : 11 sérums négatifs avec le Wright ont été négatifs à l'hémagglutination sauf 2 : l'un, appartenant à un homme en contact avec des animaux malades et ayant une intradermo-réaction positive, a été positif :

Vaccin	111 110
A. G. L.	210 000
Antigène	110 000

L'autre a été positif avec le seul vaccin sans raison apparente.

2° *Sérums ovins*. — Sérums ayant une agglutination positive.

	WRIGHT	VACCIN	A. G. L.	ANTIGÈNE	TÉMOIN
6	1/5 000	222 111	222 221	221 111	000 000
7	1/160	221 110	221 100	111 000	100 000
8	1/10	221 000	221 000	110 000	000 000
9	1/20	221 000	220 000	111 100	000 000

D'autre part, 120 sérums de brebis, récemment vaccinées (vaccin constitué par l'association d'A. G. L. + B.112) dont le séro de Wright

était positif au taux moyen de 1/320, n'ont donné lieu à aucune trace d'hémagglutination.

Enfin, 8 sérums de brebis, négatifs à l'agglutination, ont été également négatifs pour l'hémagglutination, à l'exception d'un seul positif avec le surnageant du vaccin ; la provenance de l'animal, d'un troupeau suspect, permet de penser qu'il s'agit réellement, peut-être, d'une brucellose.

3° Sérums expérimentaux :

	WRIGHT	VACCIN	A. G. L.	ANTIGÈNE	TÉMOIN
Sérum monospécifique anti- <i>melitensis</i> (1)		222 222	221 000	110 000	000 000
Sérum monospécifique anti- <i>abortus</i> (2)	1/40	222 211	212 211	111 111	000 000
Sérum anticholérique.	1/1 280	211 111	211 111	111 100	000 000

(1) Dû à M. Stableforth. Le sérum n'agglutine pas l'antigène *abortus*. Il agglutine au 1/40 une suspension de *melitensis*.
 (2) Dû à M. Stableforth.

Nos essais ont porté sur un trop petit nombre de sérums pour nous permettre autre chose que des considérations préliminaires.

D'après les premiers résultats, nous pensons que l'hémagglutination passive présente un certain intérêt, elle nécessite évidemment une mise au point en ce qui concerne, en particulier, le choix de la substance sensibilisante. C'est le surnageant vaccin qui s'est montré le plus sensible. La réaction est aussi spécifique que l'agglutination des suspensions de *Brucella* ; l'agglutination avec les tubes témoins (globules non sensibilisés) n'a jamais dépassé le premier tube et est donc négligeable ; elle est, peut-être, plus sensible, si nous tenons compte des deux sérums à Wright négatif qui se sont montrés positifs par cette technique. Il faut souligner, déjà, un fait : l'absence d'hémagglutination passive avec le sérum de brebis vaccinées présentant une agglutination élevée (moyenne 1/320) au Wright. Démonstration renouvelée de l'existence d'agglutinines à actions diverses mais aussi, peut-être, test de différenciation entre agglutinines vaccinales et agglutinines d'infection : nous pensons pouvoir le vérifier sous peu.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] MIDDLEBROOK et R. DUBOS. *J. exp. Med.*, 1948, **88**, 521.
 [2] L. LE MINOR, S. LE MINOR et J. GRABAR. *Ces Annales*, 1952, **83**, 62.

UNE NOUVELLE « ESPÈCE » DE *BRUCELLA* : *BR. INTERMEDIA*

par G. RENOUX.

(Institut Pasteur, Tunis.)

Nous avons isolé de deux foyers de brucellrose en Tunisie et identifié 18 souches de *Brucella*.

Les espèces animales vectrices étaient :

Chèvres pour 2 souches, « 52 C 1 » et « 52 C 2 » ;

Vache, 1 souche « 52 B 5 » ;

Homme, pour 15 souches, « 52 H 2 à 52 H 14 », puis « 52 H 18 » et « 52 H 19 ». Les souches humaines ont été isolées par hémoculture, sauf « 52 H 7 », obtenue par culture d'une expectoration (1).

Les techniques d'identification sont :

Action bactériostatique de la thionine et de la fuschine basique [2] : milieu Albimi-agar, contenant 1 : 75 000 de colorant de la « National Aniline Co » (calculé en poids de produit pur) ;

Dégagement d'hydrogène sulfuré [3] : bouillon gélosé au foie [4] ; papier-filtre imprégné de sous-acétate de plomb ; observation pendant quatre jours ;

Mesure de l'activité uréasique [5] : milieu de Fergusson-Anderson, température du laboratoire, temps en minutes [6] ;

Action du diéthylthiocarbamate de soude [7] ;

Identification sérologique [8] : sérums monospécifiques du Veterinary Laboratory de Weybridge.

Les souches suivantes, typiques, ont été identifiées en même temps avec les mêmes techniques, à titre de témoins :

Br. melitensis : « H. 105 » (CRFO, Montpellier) et « Foster » (Veterinary Laboratory, Weybridge) ;

Br. abortus : « B. 55 » (CRFO, Montpellier), « 99 » (Weybridge) ;

Br. suis : « S. 6 » (CRFO, Montpellier) et « P. 2 » (Weybridge) ; cette dernière souche étant une des rares souches de *Br. suis* qui agglutine avec le sérum anti-*melitensis*.

Comparé aux caractères des autres *Brucella*, le comportement des souches tunisiennes est :

Ainsi 18 souches de *Brucella*, isolées en Tunisie, sont *Br. melitensis* par les épreuves « huddlesoniennes » et l'action du DEDTC, se rapprochent de *Br. abortus* par leur activité uréasique, sont identiques à *Br. abortus* par leurs caractères antigéniques.

De telles souches de *Brucella* ont déjà été signalées par Wilson [9]

(1) Il n'est pas fréquent qu'on isole des souches de *Brucella* d'expectorations ; c'est l'inoculation au cobaye [4] qui permet cet isolement. Nous croyons que « 52 H 7 » est la première souche obtenue directement par culture d'un crachat.

	BESOIEN EN CO ₂	THIONINE	FUCHSINE	SH ₂	URÉASE	DEDTC	AGGLUTINATION par sérum anti-
18 souches tunisiennes.	—	+	+	—	55 à 110 min.	mel.	abortus.
<i>Br. melitensis</i>	—	+	+	—	1 à 70 min.	mel.	melitensis.
<i>Br. abortus</i>	+	—	+	+ 2 j.	> 15 min.	abort.	abortus.
<i>Br. suis</i>	—	+	—	+ 4 j.	1 à 5 min.	suis.	abortus (sauf P. 2).

parmi les souches venant du Sud de la France ; par nous-même ([7] p. 560) : il s'agissait d'une souche caprine venue de l'Etat d'Israël (enregistrée sous le n° « C 186 » au CRFO, Montpellier).

Si l'on veut bien admettre la classification du genre *Brucella* que nous avons proposée [10], ces souches doivent constituer une variété nouvelle de *Br. brucei* (n. sp.), var. *intermedia*.

Selon la nomenclature classique, nous pensons que les caractères des souches de *Brucella* que nous venons de décrire sont suffisamment franchés pour légitimer la création d'une nouvelle espèce : *Brucella intermedia* [n. sp.] (2).

BIBLIOGRAPHIE

- [1] M. JANBON, M. LISBONNE et G. ROMAN. *Bull. Acad. Méd.*, 1943, **127**, 278.
- [2] I. F. HUDDLESON. *Brucellosis in man and animals*, The Commonwealth Fund, éd., 1943, p. 49.
- [3] I. F. HUDDLESON et E. ABELL. *J. Bact.*, 1927, **13**, 13.
- [4] H. J. STAPSETH. *Techn. Bull. Michigan Agr. Exp. St.*, 1920, n° 49.
- [5] B. H. HOYER. *Brucellosis, a Symposium*, The Am. Assn. for the Adv. of Science, éd., 1950, p. 20.
- [6] G. RENOUX et H. QUATREFAGES. *Ces Annales*, 1951, **80**, 182.
- [7] G. RENOUX. *Ces Annales*, 1952, **82**, 556.
- [8] G. S. WILSON et A. A. MILES. *Brit. J. exp. Path.*, 1932, **13**, 1.
- [9] G. S. WILSON. *J. Hyg.*, 1933, **33**, 516.
- [10] G. RENOUX. *Ces Annales*, 1952, **82**, 289.

Nous remercions bien sincèrement A. W. Stableforth (Veterinary Laboratory, Ministry of Agriculture and Fisheries, Weybridge, Grande-Bretagne) qui a bien voulu confirmer les identifications de 9 souches soumises à son examen.

(2) *Intermedia* puisque les caractères de ces souches sont intermédiaires entre *Br. melitensis* et *Br. abortus*.

ETUDE DE 44 SOUCHES DE *CANDIDA* ISOLÉES A SAIGON PAR BILICULTURE

par E.-R. BRYGOO.

(Institut Pasteur de Saigon.)

Lorsqu'en 1901 Kohlbrugge [1] émit l'hypothèse de l'origine mycosique de la sprue, il provoqua toute une série de travaux sur les champignons levuriformes des selles. De nombreux auteurs s'y intéressèrent mais leurs résultats sont aujourd'hui d'une interprétation souvent difficile, car la systématique du genre *Candida* n'était pas alors bien définie.

Récemment Schnoor [2] rechercha les *Candida* dans les selles des individus normaux. Sur 314 examens il obtint 31,1 p. 100 de résultats positifs, avec la répartition suivante par espèces : *C. albicans* 16,9 p. 100, *C. parapsilosis* 6 p. 100, *C. krusei* 5,7 p. 100 et *C. tropicalis* 4 p. 100.

Si les champignons levuriformes de l'intestin sont donc assez bien connus, on ne possède par contre que fort peu de renseignements sur ceux de la bile. Ayant observé à plusieurs reprises des colonies de *Candida* sur des cultures de contenu duodéal recueilli à la sonde d'Einhorn, nous nous sommes attaché à l'étude systématique des champignons levuriformes de ces prélèvements pour déterminer la fréquence de leur présence ainsi que les espèces le plus souvent rencontrées.

ORIGINE DES PRÉLÈVEMENTS. — L'étude porte sur 220 échantillons adressés au laboratoire pour recherches cyto-bactériologiques. 218 provenaient de tubages duodénaux (bile B), les 2 autres avaient été prélevés par ponction de la vésicule. La répartition selon le sexe et la race était la suivante : 162 hommes (154 Européens, 8 Asiatiques), 58 femmes (51 Européennes, 7 Asiatiques).

TECHNIQUE. — On ensemait, par épuisement, le culot de centrifugation sur deux tubes de gélose Langeron. Lorsqu'il y avait des colonies de *Candida*, elles étaient purifiées puis identifiées suivant les techniques de Langeron [3], ainsi que nous l'avons déjà pratiqué au cours de précédentes enquêtes [4].

RÉSULTATS. — 1° Fréquence des *Candida* dans la bile et le contenu duodéal : Quarante-trois prélèvements (19,5 p. 100) donnèrent des colonies de *Candida*. Deux souches furent perdues en cours d'identification, mais 3 prélèvements permirent d'isoler simultanément deux espèces de *Candida*. C'est donc un total de 44 souches qui purent être étudiées et identifiées. On n'observa pas de différence de fréquence appréciable selon le sexe : 35 prélèvements positifs chez 162 hommes pour 8 chez 58 femmes.

Dans plus de la moitié des cas (25 sur 43) les colonies de *Candida* étaient abondantes sur les deux tubes de l'isolement. Souvent même (21 fois sur 43) les champignons levuriformes étaient les seuls germes isolables, les ensemencements sur gélose ordinaire pratiqués avec le même culot de centrifugation restant stériles ou ne donnant que des colonies de *Candida*. C'est en particulier le cas d'un des prélèvements fait par ponction de la vésicule : la culture ne donna qu'une flore abondante de *C. albicans*.

DISCUSSION. — Nous nous sommes demandé si les *Candida* cultivés provenaient bien de la bile et s'il ne s'agissait pas de contaminants. Mais si des contaminations se produisaient régulièrement soit au niveau de la cavité buccale, où la présence de *Candida* est bien connue, soit au cours d'un autre temps du prélèvement, il est vraisemblable que l'on trouverait une flore beaucoup plus variée dans les cultures de culot de centrifugation, les différents germes de contamination y étant représentés. Or, près de la moitié des prélèvements contenant des *Candida* ne donnaient pas d'autres germes à l'isolement. Par ailleurs, l'existence d'une flore à *Candida* dans certaines vésicules biliaires est démontrée puisque la culture d'une bile, obtenue par ponction, ne donna que des *C. albicans*. En conclusion, si l'on ne peut éliminer complètement l'hypothèse qu'un certain nombre de champignons levuriformes rencontrés dans les prélèvements de bile ont une origine extra-biliaire, il est vraisemblable cependant que la plupart proviennent effectivement de cette humeur.

2° Répartition par espèces des 44 souches de *Candida* : Nous avons à

RÉPARTITION PAR GROUPES ET PAR ESPÈCES DE 44 <i>Candida</i> ISOLÉS DE LA BILE			
Groupe <i>albicans</i>	25	Groupe <i>krusei</i>	3
<i>C. albicans</i>	25	<i>C. krusei</i>	1
Groupe <i>tropicalis</i>	8	<i>C. parapsilosis</i>	1
<i>C. robusta</i>	4	<i>C. catenulata</i>	1
<i>C. pelliculose</i>	4	Groupe <i>azymatique</i>	2
Groupe <i>guillermonti</i>	6	<i>C. heveanensis</i>	1
<i>C. guillermonti</i>	5	<i>C. zeylanoides</i>	1
<i>C. macedoniensis</i>	1		

trois reprises décelé l'association de deux espèces de *Candida*. Il s'agissait de *C. albicans* et *C. robusta*, *C. albicans* et *C. guillermonti*, *C. guillermonti* et *C. heveanensis*. Le tableau ci-dessus donne la répartition par groupe et par espèce.

La détermination des espèces n'a pas présenté de grandes difficultés. *C. albicans* est, ici encore, l'espèce de beaucoup la plus répandue. Par contre, *C. krusei*, que certains auteurs considèrent comme plus spécifiquement d'habitat intestinal, n'a pas été rencontré avec une particulière fréquence.

RÉSUMÉ. — Nous avons isolé dans 19 p. 100 des prélèvements de bile faits à Saïgon pour étude cyto-bactériologique, des champignons leu-

rifformes du genre *Candida*. L'étude de 44 souches a permis d'identifier 10 espèces différentes. Plus de la moitié de ces souches étaient des *C. albicans*.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] KOHLBRUGGE. *Centralb. Bakt.*, 1901, 10 et 70.
- [2] T. G. SCHNOOR. *Am. J. trop. Med.*, 1939, 19, 163.
- [3] M. LANGERON. *Précis de Mycologie*, Masson, édit., Paris, 1945.
- [4] E. R. BRYGOO. Ces *Annales*, 1951, 81, 676 et 1952 (*sous presse*).

ÉTUDE DE 66 SOUCHES DE *CANDIDA* ISOLÉES A SAIGON DE PRÉLÈVEMENTS PHARYNGIENS

par E.-R. BRYGOO.

(*Institut Pasteur de Saigon*)

La présence de *Candida* dans la cavité buccale est un fait connu. L. Rauramo et K. Penttinen [1] isolèrent dix-neuf fois *C. albicans* au cours de l'examen de la bouche de 109 nouveau-nés. Ils constatèrent que, si le champignon ne se rencontre pas dans les premières heures après la naissance, il apparaît rapidement dans les premiers jours de la vie. W. Tanner et M. Lampert [2] trouvèrent des champignons levuriformes dans la gorge de 10 p. 100 des sujets normaux et signalèrent que, dans des cas de diphtérie, la culture sur sérum coagulé pouvait montrer, à côté du bacille de Loeffler, des colonies de *Candida*. En Hollande, selon N. Orie [3], les champignons levuriformes se rencontrent dans la cavité buccale avec une fréquence variant de 10 à 60 p. 100. Les auteurs de ces travaux se sont arrêtés au diagnostic de genre, ils ne donnent pas d'indication sur les espèces observées.

L'importance qu'il convient d'accorder à la constatation de ces champignons varie selon les auteurs. Le muguet peut être provoqué par d'autres *Candida* que le classique *C. albicans*. Pour A. Catanei [4] *C. albicans*, *C. tropicalis* et *C. krusei* pourraient être agents de glossites. C'est également l'avis de A. Castellani [5] qui, à côté des glossites, décrit une « follicular tonsillomycosis » et une « tonsillomycosis diphtheria-similis » dont les agents seraient divers *Candida*.

Il nous a semblé intéressant de déterminer quelles étaient, dans les conditions locales :

1° La fréquence avec laquelle des *Candida* se rencontrent sur les prélèvements pharyngiens.

2° La répartition par espèce des champignons ainsi isolés.

Origine des souches. — Toutes les souches étudiées (66) proviennent de prélèvements de gorge sur écouvillons, adressés au laboratoire pour recherche de bacilles diphtériques. Un premier lot comprend 25 souches de *Candida* ayant cultivé directement sur sérum coagulé. Un deuxième

groupe de 41 souches provient d'une prospection systématique portant sur 125 prélèvements. Les écouvillons, après l'ensemencement sur sérum coagulé, étaient épuisés sur deux tubes de gélose Langeron. L'observation de ces milieux, maintenus à la température du laboratoire (30°), se poursuivait pendant une semaine. Ces 125 prélèvements provenaient de 39 enfants (19 Européens et 20 Asiatiques), 22 femmes (12 E. et 10 A.) et 64 hommes (52 E. et 12 A.).

Technique. — La technique d'isolement, de purification et d'identification fut la même que celle utilisée précédemment [6] pour l'étude des *Candida* de l'expectoration des tuberculeux. Elle dérive directement des recommandations de Langeron [7].

Résultats. — 1° Fréquence des *Candida* dans les prélèvements amygdaliens ; 39 prélèvements sur 125, soit 31,2 p. 100, contenaient des *Candida* : tel est le résultat global de l'enquête systématique. Une culture fut perdue en cours d'isolement, 3 prélèvements donnèrent deux espèces de *Candida*.

Bien que le nombre peu élevé d'examens (125) restreigne beaucoup la valeur des considérations statistiques sur la fréquence des *Candida* chez les différentes catégories d'individus, il semble que l'on puisse en tirer quelques conclusions. La race, dans les conditions de l'expérience, ne joua aucun rôle : 26 prélèvements positifs chez 83 Européens, 13 positifs chez 42 Asiatiques. Par contre, l'âge paraît avoir une influence. S'il ne semble pas y avoir de différence entre les adultes des deux sexes (25 sur 64 hommes ou 30 p. 100, contre 8 sur 22 femmes ou 36 p. 100) le taux chez les enfants paraît particulièrement bas (6 sur 39 ou 15 p. 100).

Il est possible, dans une certaine mesure, d'apprécier l'importance de l'infestation pharyngienne par des *Candida* d'après le nombre de colonies observées sur les tubes de l'isolement. C'est ainsi que vingt et une fois sur trente-neuf les colonies étaient nombreuses (plus de 20 sur chaque tube) tandis que dix-huit fois leur nombre variait de 1 à 10. Pour 11 prélèvements les colonies de *Candida* furent seules à se développer. Le germe le plus fréquemment associé fut le staphylocoque. Au cours de cette série de 125 examens, sept fois on identifia *Corynebacterium diphtheriae*. Trois fois il était associé à *C. albicans*.

2° Répartition par espèces des souches de *Candida*.

L'étude de la répartition par espèces porte sur 66 souches isolées de 61 prélèvements : 38 cultures positives au cours de l'enquête et 23 prélèvements positifs directement sur sérum coagulé. Cinq fois on décela une association de deux espèces de *Candida*. Il s'agissait de *C. tropicalis* et *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* et *C. rugosa*, *C. pelliculosa* et *C. krusei*, *C. albicans* et *C. macedoniensis*, *C. guilliermondi* et un *Candida* du groupe *krusei*.

Le diagnostic de groupe par la méthode de Langeron se fait toujours sans difficulté, mais à l'intérieur des groupes il est parfois difficile de parvenir au diagnostic d'espèce. Si les caractères fournis par l'auxanogramme des sucres permettent une subdivision facile, ceux qui sont basés sur l'aspect des colonies ou sur la plus ou moins grande précocité d'apparition d'un anneau ou d'un voile semblent beaucoup moins sûrs.

Plus de la moitié des souches sont des *C. albicans*. Au cours de

RÉPARTITION PAR GROUPE ET PAR ESPÈCES DE 66 <i>Candida</i> isolés de prélèvements pharyngiens			
Groupe <i>albicans</i>	35	Groupe <i>krusei</i>	13
<i>C. albicans</i>	35	<i>C. krusei</i>	2
Groupe <i>tropicalis</i>	12	<i>C. parapsilosis</i>	4
<i>C. tropicalis</i>	7	<i>C. catenulata</i>	1
<i>C. robusta</i>	3	<i>C. sp.</i>	6
<i>C. pelliculosa</i>	2	Groupe azymatique	4
Groupe <i>guilliermondi</i>	2	<i>C. rugosa</i>	2
<i>C. guilliermondi</i>	1	<i>C. zeylanoides</i>	1
<i>C. macedonicnsis</i>	1	<i>C. heveanensis</i>	1

l'enquête, *C. albicans* fut isolé vingt et une fois sur trente-huit, et dix fois il s'agissait d'une infestation importante. Aucune des 35 souches du groupe *albicans* ne correspondait à *C. stellatoïdes*, une seule donnait un voile en milieu Langeron, ce caractère définissant la variante *triadis*.

Dans le groupe *krusei*, 6 souches ne purent être classées avec certitude. Si l'auxanogramme des sucres, positif pour le saccharose et le maltose, les rapproche de *C. parapsilosis*, pour ces 6 souches la fermentation du glucose est lente (1 bulle de gaz en dix jours), caractère incompatible avec la description classique de *C. parapsilosis* dont des souches typiques furent isolées par ailleurs.

Résumé et conclusions. — Sur plus de 30 p. 100 des prélèvements pharyngiens faits à Saïgon pour la recherche de *Corynebacterium diphtheriae*, il fut possible d'isoler des champignons levuriformes du genre *Candida*. Sur 66 souches étudiées, on identifia trente-cinq fois *C. albicans*.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] L. RAURAMO et K. PENTTINEN. *Ann. Med. exp. Biol. Fenniae*, 1948, **26**, 86.
- [2] W. E. N. TANNER et M. LAMPERT. *Zentralbl. Bakt.*, 1927, **103**, 94.
- [3] N. G. M. ORIE. *Nederl. T. Geneesk.*, 1947, **91**, 3576.
- [4] A. CATANEI. *Arch. Inst. Pasteur Algérie*, 1945, **23**, 45.
- [5] A. CASTELLANI. *Ann. Inst. Med. Trop.*, 1949, **6**, 369.
- [6] E. R. BRYGOO. *Ces Annales*, 1951, **81**, 676.
- [7] M. LANGERON. *Précis de Mycologie*, Masson, édit., Paris, 1945.

PSEUDOMONAS AERUGINOSA FORME MUQUEUSE

par E.-R. BRYGOO.

(Institut Pasteur de Saïgon.)

Certaines variations microbiennes n'apparaissent qu'avec une très grande rareté, telle la forme muqueuse de *Pseudomonas aeruginosa* dont nous venons d'observer 1 cas à Saïgon. A notre connaissance, cette

forme n'avait été signalée que dans 5 observations : Sonnenschein [6] 1927, Dahr et Kolb [1] 1935, Schwarz et Lazarus [5] 1947, Marsh, Streng et Stem [4] 1949.

Chez un Vietnamien, en 1941, fut instauré un pneumothorax droit pour un syndrome pulmonaire dont l'étiologie bacillaire n'a jamais été confirmée. Revu en 1945, avec un épanchement pleural purulent, ce malade était régulièrement suivi à l'hôpital Grall par le Dr Prost depuis avril 1949. Malgré un traitement par divers antibiotiques à hautes doses, les examens permirent d'isoler régulièrement un bacille pyocyanique dans la plèvre. A deux reprises, en janvier et en mars 1951, la culture du pus pleural donna une forme muqueuse de bacille pyocyanique alors que l'examen direct ne montrait pas de germes.

Les deux souches observées présentaient des caractères très voisins. Avec l'une et l'autre, dans la culture directe du pus pleural, apparurent, parmi des colonies normales de *Pseudomonas aeruginosa*, quelques colonies muqueuses qui, après vingt-quatre heures, coulaient à la surface de la gélose pour s'amasser en une masse gluante à la partie déclive. L'examen des germes de l'une quelconque de ces colonies muqueuses permettait de mettre en évidence une capsule nette, particulièrement visible par le procédé à l'encre de Chine. Mais cette colonie M, repiquée, donnait naissance à des colonies normales et à de rares colonies muqueuses, celles-ci devenant d'ailleurs de moins en moins fréquentes au cours des repiquages ultérieurs.

Les caractères biochimiques de cette souche n'étaient donc pas ceux de la variante muqueuse mais ceux d'une souche de *Ps. aeruginosa* comportant un certain nombre de variants muqueux. Ils ne présentaient d'ailleurs rien de particulier : le glucose était le seul sucre acidifié en trois jours ; le sérum coagulé était rapidement digéré, le lait peptonisé ; il y avait une abondante production de pyocyanine et de fluorescine.

L'inoculation péritonéale d'une suspension en eau physiologique d'une des colonies muqueuses du premier isolement tua le cobaye en vingt-quatre heures ; mais la reprise du germe à l'autopsie de l'animal ne donna qu'un pyocyanique normal. Avec la deuxième souche, un cobaye inoculé par voie sous-cutanée ne présenta qu'une petite escharre locale. Un autre cobaye inoculé par voie péritonéale ne montra aucun symptôme ; mais la reprise du germe dans la sérosité péritonéale était encore possible huit jours après inoculation d'épreuve, elle ne donnait qu'un pyocyanique normal.

Les deux souches muqueuses étaient particulièrement streptomycino-résistantes, puisqu'il fallait 250 µg par millilitre pour inhiber quarante-huit heures la croissance de la première et 500 µg pour inhiber dans les mêmes conditions la seconde.

Dès l'isolement et au cours des premières subcultures, on s'est efforcé de mettre en évidence la présence d'un bactériophage, tant par l'observation attentive des colonies sur gélose que par la recherche d'un principe lytique dans les cultures en bouillon. Cette recherche ne donna qu'un résultat négatif.

Le problème le plus intéressant que pose cette variation est celui de son origine. Apparaît-elle dans l'organisme sous l'influence des

réactions de défense ? Il est remarquable que quatre fois sur six (Sonnenschein, Dahr et Kolb, Schwarz et Lazarus) les souches ont été isolées au cours d'affections caractérisées par une suppuration prolongée.

L'hypothèse de l'influence d'un bactériophage, qu'il est logique d'envisager depuis que d'Hérelle a décrit la transformation muqueuse d'Entérobactéries sous l'influence du bactériophage, n'a pu être vérifiée. Ni Sonnenschein, ni Dahr et Kolb n'ont pu mettre en évidence de principe lytique, et nous n'avons pas été plus heureux.

Quelle que soit son origine, cette variation semble particulièrement instable ; Sonnenschein signalait aussi la présence constante de colonies de type normal à côté du type muqueux ; mais alors qu'il réussissait à entretenir la souche pendant plusieurs mois, à deux reprises nous l'avons perdue en quelques semaines.

RÉSUMÉ. — Nous rapportons les conditions d'isolement, la description et le comportement d'une forme muqueuse de *Pseudomonas aeruginosa* isolée à deux reprises d'un pus pleural. A cette occasion nous donnons une brève revue des observations antérieures.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] P. DAHR et H. KOLB. *Deutsche med. Wochenschr.*, 1935, **61**, 1879.
- [2] P. DOMINGO et J. CULLELL. *C. R. Soc. Biol.*, 1932, **110**, 736.
- [3] W. GABY. *J. Bact.*, 1946, **51**, 217.
- [4] H. F. MARSH, H. B. STRENGE et J. M. STEM. *Am. J. Dis. Child.*, 1949, **78**, 252.
- [5] L. H. SCHWARZ et J. A. LAZARUS. *J. Bact.*, 1947, **54**, 30.
- [6] C. SONNENSCHN. *Centralbl. Bakt.*, 1927, **104**, 365.

POUVOIR CHROMOGENE DE *MALLEOMYCES PSEUDOMALLEI*

par E.-R. BRYGOO et C. RICHARD.

(Institut Pasteur de Saigon.)

Il est classique de reconnaître au bacille de Whitmore une certaine activité pigmentogène qui se traduit par l'apparition, dans les colonies âgées, d'une teinte chamois, marron, ou chocolat, parfois rose ou violette, particulièrement bien visible sur pomme de terre et sur milieu glycéro, et, parfois sur gélose ordinaire. Stanton et Fletcher [1] signalèrent, en 1932, une souche isolée d'un cas de mélioirose humaine et donnant une couleur « safran » en eau peptonée. En 1943, J. Genevray [2], cultivant en milieu de Sauton 8 souches de *M. pseudomallei*, décrit une coloration verte, fluorescente, produite en moins de quarante-huit heures par 6 d'entre elles. Quant à la nature de ce pigment, Genevray s'exprime ainsi : « Le pigment vert produit par le

bacille de Whitmore est soluble dans l'eau, insoluble dans l'éther et dans le chloroforme, il est en tous points semblable au pigment vert fluorescent du bacille pyocyanique et des espèces voisines... ». Selon Gastinel [3], on pourrait observer une production de pigment « jaune d'or » sur glycérine pure.

Des circonstances locales favorables mettant à notre disposition un nombre relativement important de souches de bacilles de Whitmore nous ont incités à reprendre les recherches relatives au pigment de *M. pseudomallei*.

Bien qu'utilisant exactement la technique de l'auteur, nous n'avons pu observer le pigment décrit par Genevray. Nos essais portèrent sur 41 souches et l'observation fut poursuivie pendant un mois.

D'autre part, nous n'avons pas réussi à faire apparaître de pigment sur la glycérine pure, celle-ci n'ayant permis la culture d'aucune des 10 souches éprouvées.

Au cours d'une étude systématique, nous avons retrouvé avec un certain nombre de souches la pigmentation de « vieillissement » classique. Nous avons aussi vu apparaître à deux reprises, des mutants colorés dont le pigment est visible dès les premières heures de croissance des colonies. Notre étude porta sur 39 souches d'origine humaine, isolées chez 25 malades.

I. LE PIGMENT DE VIEILLISSEMENT. — L'apparition de pigment sur les colonies âgées n'est pas un caractère constant. Sur 39 souches étudiées, 16 seulement se pigmentèrent sur un au moins des milieux utilisés.

NUMÉRO de la souche	PIGMENT VISIBLE APRÈS 10 JOURS DE CULTURE SUR :		
	Gélose ordinaire	Pomme de terre glycérinée à 5 p. 100	Gélose glycérinée à 5 p. 100
C. 3 . . .	Ocre obscur (215).	Terre ocreuse (246).	Terre ocreuse (246).
C. 133 . .	Violet minéral clair (620).	0	Chamois (250).
C. 135 . .	<i>Id.</i>	0	0
C. 137 . .	<i>Id.</i>	Jaune Naples (199).	0
C. 138 . .	<i>Id.</i>	Terre ocreuse (246).	Chamois (250).
C. 139 . .	<i>Id.</i>	Chamois (250).	0
C. 144 . .	Terre ocreuse (246).	Ocre orange (247).	Terre ocreuse (246).
C. 142 . .	0	Terre ocreuse (246).	Chamois (250).
C. 144 . .	Violet minéral clair (620).	0	<i>Id.</i>
51352 . .	0	0	0
51353 . .	0	0	0
52144 . .	Violet minéral clair (620).	0	0
52156 . .	<i>Id.</i>	0	0
52159 . .	<i>Id.</i>	0	Terre ocreuse (246).
52160 . .	<i>Id.</i>	0	Chamois (250).

Le tableau ci-dessus résume nos observations. Pour définir les coloris observés, nous avons utilisé le Code de Seguy [4], les numéros permettent de se reporter aux planches de l'auteur. La coloration décrite est celle des colonies observées en place, sur le milieu de culture.

La pigmentation de vieillissement n'est donc pas un caractère constant, et, lorsqu'elle existe, elle n'apparaît pas sur tous les milieux et ne présente pas sur tous les mêmes teintes. En deux mois d'observation, nous n'avons pas constaté de variation notable de la pigmentation de vieillissement pour une souche donnée.

Les repiquages en série de 2 souches non pigmentées, sur gélose glycinée (15 repiquages, 1 tous les cinq jours), n'ont pas réussi à faire apparaître de pigmentation. Le même traitement ne modifia pas de façon sensible les conditions d'apparition du pigment de 2 souches donnant naturellement une coloration de vieillissement (C.3 et C.138).

II. ETUDE DE DEUX SOUCHES A PIGMENT PRÉCOCE. — a) *Origine*. — Ces souches (51258 a et 52195 a) furent isolées au cours d'ensemencement sur gélose glycinée à 5 p. 100. Après quarante-huit heures de culture, sur le fond uni et blanc des colonies classiques, apparut dans les deux cas : une colonie pigmentée, « terre ocreuse » (246) pour l'une, « jaune soleil » (256) pour l'autre. Repiquées sur gélose glycinée, ces colonies ne donnèrent que des colonies filles pigmentées.

b) *Caractères*. — Les deux mutants pigmentés sont apparus chez des souches qui ne donnaient pas de pigment de « vieillissement ». Elles produisent toutes deux du pigment en abondance sur milieux solides. Ce pigment ne diffuse pas (ou ne diffuse que très peu) dans les milieux liquides où seul le voile se colore. La présence de glycérine favorise nettement la production de pigment pour l'une des souches (51258 a), mais elle semble sans influence pour l'autre. Les caractères biochimiques et culturaux de ces 2 souches sont absolument comparables à ceux du bacille de Whitmore classique. Inoculée au cobaye chaque souche provoqua une mélioiïdose expérimentale caractéristique (mort en sept et quatorze jours respectivement) et la rétro-culture donna des germes ayant les mêmes caractères chromogènes que ceux de l'inoculation.

III. ESSAIS D'EXTRACTION DU PIGMENT. — Pour ces essais, nous avons utilisé des cultures en boîte de Roux, sur gélose ordinaire, de la souche 5295 a. La pigmentation déjà nette en quarante-huit heures augmente d'intensité pour atteindre son maximum en une semaine. Les germes sont alors mis en suspension dans une faible quantité d'eau distillée. Cette suspension est stérilisée par un séjour d'une heure au bain marie à 100° et la stérilité est contrôlée avant que ne soient pratiquées les premières manipulations chimiques. Après différents essais, nous avons adopté la méthode ci-dessous.

Quinze grammes d'une bouillie épaisse de corps microbiens sont agités avec 50 ml d'une solution chlorhydrique à 2 p. 100. Ce mélange est hydrolysé pendant trente minutes au bain-marie bouillant. Après refroidissement, la suspension est soumise à deux centrifugations successives de quinze minutes chacune, à la vitesse de 5 000 tours par minute. Le liquide clair décanté et filtré est réduit à la moitié de son volume par concentration au bain-marie. Ce concentré est agité avec 125 ml de glycérine bidistillée R. P. rigoureusement incolore, 50 ml de chloroforme rectifié et quelques gouttes d'alcool caprylique, agissant comme anti-émulsionnant. La glycérine prend une coloration « ocre-

jaune » (213) intense. Le chloroforme, insoluble dans la glycérine, reste incolore. Cette non-coloration du chloroforme permet d'éliminer l'hypothèse d'une coloration parasite par les matières grasses. Il s'agit donc d'un pigment vrai hydro-soluble.

RÉSUMÉ. — La production de pigment par *Malleomyces pseudomallei* est un caractère contingent. Le pouvoir chromogène varie suivant les souches et les conditions de culture. Certaines souches peuvent produire rapidement un pigment jaune, hydrosoluble. Ce pigment peut être extrait des corps bactériens après hydrolyse chlorhydrique.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] A. T. STANTON et W. FLETCHER. *Melioidosis*. Bale et Danielson, édit. 1932, Oxford.
- [2] J. GENEVRAY. *C. R. Séance Cons. Rech. Indoc.*, 1943, 27-28.
- [3] P. GASTINEL. *Précis de Bactériologie Médicale*, Masson, édit., 1949, 507
- [4] E. SEGUY. *Code Universel des Couleurs*, Lechevalier, édit., Paris, 1936.

COMPORTEMENT DES RICKETTSIES PATHOGÈNES

(*R. PROWAZEKI*, *R. MOOSERI*)

CHEZ LES POISSONS ET LES AMPHIBIENS.

LEUR LOCALISATION, LA PRODUCTION DES ANTICORPS

par GIACINTO CIACCIO

(présenté par M. PAUL GIROUD).

(Institut Pasteur.)

Chez les poissons, les essais antérieurs de P. Giroud et G. Ciaccio [1] nous avaient permis d'étudier l'infection de *Phoxinus phoxinus*, *Carassius auratus* et *Eupomotis gibbosa* qui réagissent en élaborant des agglutinines antirickettsiennes.

On a réalisé deux passages successifs aux dépens des branchies et d'autres organes (foie, rate, reins).

Le virus murin semble mieux s'adapter que l'épidémique à cause, probablement, de sa plus grande résistance. En poursuivant des recherches de pathologie expérimentale, nous avons renouvelé les essais sur des vertébrés inférieurs.

Animaux éprouvés. — Poissons : *Eupomotis gibbosa*, *Ameiurus nebulosus*.

Amphibiens : *Triton alpestris*, *Bufo calamita*, *Rana temporaria*.

Ces animaux ont été gardés à la température du laboratoire, entre 15° et 25° C.

Produits virulents. — Les broyats de poumon de souris infectée par *Rickettsia prowazeki* ou *Rickettsia mooseri* étaient inoculés dans la cavité abdominale (2,5, 5 et 15 mg de poumon) ; ce sont des doses qui

provoquent des lésions cutanées importantes chez le lapin, la lésion la plus minime étant provoquée par 3 à 5 mg.

Comportement des poissons. — Quatre *E. gibbosa* et 10 *A. nebulosus* ont été éprouvés. Les frottis des animaux normaux ne révèlent ni rickettsies, ni éléments semblables.

Recherche d'agglutinines. — Elles n'existent pas chez les animaux non infectés. Elles apparaissent après l'injection. Les taux constatés sont 1 : 1 280 au dix-septième jour pour *E. gibbosa* et 1 : 280 au vingt-et-unième jour pour *A. nebulosus*.

Recherche des rickettsies. — Au cours des essais précédents, on avait reconnu dans les branchies et surtout dans les ovaires de *Carassius auratus*, des éléments très fins, ayant au Giemsa la coloration des rickettsies. Ces éléments se trouvent dans tout l'ovaire et, en particulier, dans de grosses vésicules non colorées, comme on le voit dans certaines conditions au cours des passages sur les animaux habituellement utilisés.

On constate un petit nombre de gros éléments correspondant aux grosses formes de rickettsies et un grand nombre d'éléments de taille habituelle, réunis en amas, se présentant sous l'aspect bipolaire, colorés en rouge violet au Giemsa.

TABLEAU I. — Résumé des passages sur poissons.

	SOUCHE	PASSAGE	ORGANES	MAMMIFÈRE	MALADIE du cobaye	RÉACTIONS sérologiques du cobaye	ÉPREUVE d'immunité
<i>Eupomotis gibbosa</i> .	<i>R. mooseri</i> .	7° j.	Reins, rate, foie.	Cobaye.	3 j. de fièvre.	± 80 au 18° j.	
<i>Id.</i>	Foie, rate, reins de <i>E. gibbosa</i> (1° passage).	9° j.	Branchies.	<i>Id.</i>	8 j. de fièvre, meurt au 10° j.		
		<i>Id.</i>	Foie, rate, gonades. Sang (0,70 cm ³).	<i>Id.</i>	10 j. de fièvre.	± 80 au 20° j.	Non immunisé
<i>Amejurus nebulosus</i> .	<i>R. mooseri</i> .	7° j.	Branchies.	<i>Id.</i>	4 j. de fièvre.	0 au 18° j.	<i>Id.</i>
		<i>Id.</i>	Branchies.	<i>Id.</i>	5 j. de fièvre.	± 160 au 18° j.	<i>Id.</i>
		<i>Id.</i>	Rate, reins, foie.	<i>Id.</i>	11 j. de fièvre, Neill-Mooser du 7° au 12° j.	+ 1 280 au 18° j.	<i>Id.</i>
<i>Id.</i>	Foie, rate, reins de <i>A. nebulosus</i> (1° passage).	7° j.	Sang.	<i>Id.</i>	9 j. de fièvre.	0 au 20° j.	
			Branchies.	<i>Id.</i>	1 j. de fièvre, Neill-Mooser à gauche (cocci Gram- positif.).	0 au 21° j.	Non immunisé
			Rate, reins, foie.	<i>Id.</i>	5 j. de fièvre.	± 320 au 20° j.	Immunisé
			Rate, reins, foie.	<i>Id.</i>	10 j. de fièvre, Neill-Mooser du 14° au 15° j.	+ 640	Non immunisé

TABLEAU II. — Essais de passage du virus des amphibiens au cobaye et au lapin.

	SOUCHE	PASSAGE	ORGANES	MAMMIFÈRE	MALADIE du cobaye ou du lapin	RÉACTIONS sérologiques
<i>Triton alpestris</i> . .	<i>R. mooseri</i> .	8° j.	Foie, rate, poumons, reins. Foie, rate, poumons, reins. OEufs.	Cobaye. <i>Id.</i> <i>Id.</i>	7 j. de fièvre. 3 j de fièvre, Neill-Mooser 7° et 8° j. (R. ++ corps rubis et quelques c. Hules de Mooser). 6 j. de fièvre, Neill-Mooser du 10° au 13° j.	0 au 18° et 25° j. + 80 au 18° j. + 1 280 au 25° j.
<i>Id.</i>	<i>Id.</i>	22° j.	Foie, rate, reins, poumons. Foie, rate, reins, poumon.	<i>Id.</i> <i>Id.</i>	1 j. de fièvre. 12 j. de fièvre, Neill-Mooser au 7° j. (R + et quelques c. Hules de Mooser).	0 au 19° j. + 80 au 19° j.
<i>Id.</i>	<i>Id.</i>	35° j.	Testicules, corps gras. Foie, rate, reins, poumon. OEufs. OEufs.	<i>Id.</i> <i>Id.</i> <i>Id.</i> <i>Id.</i>	8 j. de fièvre. 10 j. de fièvre. 3 j. de fièvre. 3 j. de fièvre.	+ 1 280 au 18° j. 0 au 21° et au 29° j. 0 au 21° et au 29° j. 0
<i>Bufo calamita</i> . .	<i>Id.</i>	10° j.	OEufs. Poumon, foie, rein.	<i>Id.</i> <i>Id.</i>	12 j. de fièvre, Neill-Mooser du 12° au 17° j. 3 j. de fièvre, Neill-Mooser (cellules de Mooser R. ++++).	au 29° j. + 160 au 20° j.
<i>Rana temporaria</i> .	<i>R. prowazeki</i> .	11° j.	Ovaire, rate, rein, foie. Ovaire, rate, rein, foie.	Lapin de 600 g. Lapin de 2 000 g.	Réaction dermique de 56,75. Réaction dermique de 1 012.	± 640 au 14° j. + 320 au 19° j. ± 640 au 14° j. ± 160 au 19° j.

Il est donc possible de retrouver ces éléments dans les tissus et dans les organes des poissons ayant reçu en grande quantité des rickettsies cultivées sur poumon de souris. On les a constatés aussi dans les frottis de sang et, en particulier, dans les cellules phagocytaires de *A. nebulosus*.

Passages. — Ils sont résumés dans le tableau I. Les passages successifs (3^e et 4^e) ont toujours été négatifs.

Amphibiens. — Nous avons éprouvé : 16 *Triton alpestris*, 3 *Bufo calamita* et 9 *Rana temporaria*. Dans les frottis des animaux normaux, on ne reconnaît ni rickettsies, ni éléments semblables.

Agglutinines. — Les agglutinines antirickettsiennes naturelles cherchées chez les *T. alpestris* ne sont pas présentes. Après l'inoculation du virus, les taux sont de :

T. alpestris : 1 : 20 au huitième jour, 0 au vingtième jour, 1 : 160 au trente-cinquième jour, 1 : 40 au cent douzième jour.

B. calamita : 1 : 40 au dixième jour et 1 : 280 au dix-septième jour.
R. temporaria : La recherche a été négative (0 au dixième, onzième et quinzième jour).

Passages. — Dans le tableau II sont rapportés les essais de passages du virus des amphibiens au cobaye et au lapin.

Les passages successifs *Triton-Triton* et *Rana-Rana*, plusieurs fois essayés, n'ont pas donné de résultats positifs.

CONCLUSIONS. — 1^o *Rickettsia prowazeki* et *Rickettsia mooseri* peuvent infecter les poissons et les amphibiens. Ces animaux réagissent en élaborant des agglutinines antirickettsiennes spécifiques.

2^o La conservation du virus chez les vertébrés inférieurs est prouvée par les passages aux cobayes, qui font une maladie typique, et aux lapins, chez lesquels on peut obtenir des réactions intradermiques (test cutané de P. Giroud). Les cobayes et les lapins produisent des agglutinines spécifiques aux taux de 1 : 80 à 1 : 280.

3^o Deux passages ont été réalisés chez les poissons et un seul chez les amphibiens.

4^o La virulence de *Rickettsia prowazeki* et *Rickettsia mooseri* n'est pas modifiée. Avec le virus murin plus résistant, semble-t-il, que l'épidémie, on peut observer chez le cobaye des réactions de Neill-Mooser remarquables.

5^o Chez les poissons ayant reçu des rickettsies cultivées sur poumon de souris, on met en évidence des rickettsies. Ces éléments se présentent sous l'aspect de grosses formes ou sous l'aspect habituel de petits éléments bipolaires. Ils prennent bien le Giemsa et le Macchiavello.

RÉSUMÉ. — *Rickettsia prowazeki* et *Rickettsia mooseri* peuvent infecter les poissons et les amphibiens. La conservation du virus chez ces animaux est prouvée par la production des agglutinines spécifiques et par passage au cobaye et au lapin. Deux passages ont été réalisés chez les poissons et un seul chez les amphibiens. La virulence du virus n'est pas modifiée.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] P. GIROUD et G. CIACCIO, *C. R. Soc. Biol.*, 1948, **142**, 1478.

COLORATION DES INCLUSIONS URÉTHRALES PAR LA MÉTHODE DE GIEMSA A CHAUD

par G. MOUSTARDIER et M. PERREY.

(Clinique de Dermato-Syphiligraphie
et Laboratoire de Microbiologie de la Faculté de Médecine de Bordeaux.)

Au cours de recherches effectuées dans le Service de Dermato-Syphiligraphie de M. le professeur Joulia (1) sur les uréthrites amicrobiennes du type *Waelsh*, nous avons pratiqué plusieurs techniques de coloration pour mettre en évidence les inclusions intracytoplasmiques caractéristiques de ces affections.

Nous avons utilisé les méthodes de coloration préconisées par Harkness, Durel, Borel, Siboulet et leurs collaborateurs.

Au début de nos recherches, dans chaque cas étudié, nous avons pratiqué concurremment plusieurs colorations : Castaneda, Macchiavello, Giemsa.

Ces trois méthodes nous ont toutes donné de bons résultats, mais il nous a semblé que la méthode de Giemsa, par sa simplicité et sa facilité d'exécution était la meilleure.

La méthode de Giemsa a été utilisée d'abord suivant les deux modalités classiques :

a) *Méthode lente.* — Après fixation, les lames retirées de l'alcool méthylique sont plongées dans un tube de Borrel contenant une solution de Giemsa au 1/20, fraîchement préparée et de pH 7, où elles séjournent pendant vingt-quatre heures. Sorties du bain colorant, les lames sont d'abord lavées à l'eau distillée de pH 7 et plongées ensuite dans un tube de Borrel contenant de l'acétone en vue de la décoloration. C'est le temps le plus délicat, qui dure de vingt secondes à deux minutes suivant l'épaisseur des frottis, mais qui devra être suivi sous le microscope si l'on désire obtenir une très bonne coloration. On arrête la décoloration dès que les cellules apparaissent de teinte rose pâle. Les lames sont alors lavées à l'eau distillée de pH 7 et séchées délicatement entre plusieurs feuilles de papier filtre.

b) *Méthode rapide.* — Après fixation, les lames sont recouvertes d'une solution fraîchement préparée de Giemsa au 1/3 et à pH 7 pendant quinze à vingt minutes. Lavage à l'eau distillée de pH 7, puis décoloration rapide à l'acétone suivie au microscope comme dans la méthode lente.

Nous avons très vite abandonné la méthode rapide, qui ne nous a jamais donné de bonnes colorations bien différenciées, pour ne conserver que la méthode lente qui nous a régulièrement donné de bons résultats.

(1) Nous remercions M. le professeur Joulia de nous avoir permis ces recherches dans son service.

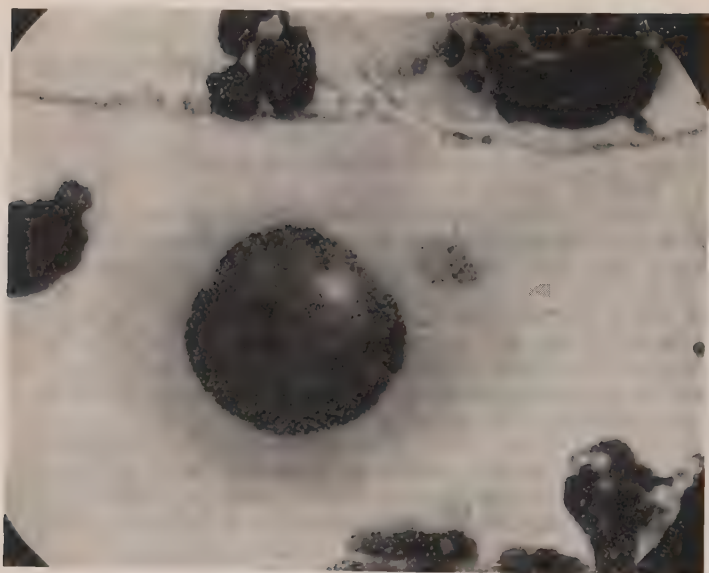


FIG. 1.



FIG. 2.

Nous avons par la suite utilisé une troisième modalité de la méthode de Giemsa, préconisée par Giroud pour la coloration des rickettsies.

Cette méthode de Giemsa à chaud est facile à exécuter.

Après fixation à l'acétone pendant quinze minutes, les lames sont séchées et lavées ensuite à l'eau ordinaire. On fait agir pendant cinq minutes sur les lames fixées et lavées le mélange suivant :

Eau distillée neutre bouillante	5 cm ³
Solution de Giemsa pure	XXV gouttes.

On lave à l'eau distillée, on différencie rapidement pendant quelques secondes dans un mélange à parties égales d'alcool absolu et de xylol et on lave à nouveau à l'eau distillée.

Cette méthode rapide donne de très bonnes colorations, bien différenciées, avec cellules colorées en rose, noyaux en rouge très foncé et inclusions intracytoplasmiques en rouge pourpre, se détachant très nettement sur le fond rosé du cytoplasme (V. fig. 1 et 2).

Nous pensons donc que la méthode de Giemsa à chaud, que l'un de nous a récemment préconisée dans le diagnostic des uréthrites à inclusions, est celle qui permet d'obtenir rapidement et facilement de très bonnes colorations dont l'utilité s'avère indispensable pour la lecture minutieuse et patiente des frottis d'uréthrites amicrobiennes.

Nous avons aussi pratiqué la coloration au bleu de méthylène citraté, utilisée par Poleff pour la mise en évidence des corps du trachome.

Cette méthode, très facile à exécuter, comporte, après fixation des frottis à la chaleur, une coloration pendant trois minutes dans le mélange suivant :

Bleu de méthylène	1 g
Acide citrique	0,50 g
Eau distillée	100 cm ³

Après coloration, un simple lavage à l'eau du robinet, sans différenciation préalable, est suffisant.

Nous avons obtenu des colorations parfaitement lisibles avec cytoplasme coloré en bleu clair et noyaux en bleu violacé très foncé mais, malgré de patientes recherches, nous n'avons pu trouver d'inclusions intracytoplasmiques, qui, par analogie avec les corps du trachome, devraient apparaître en rouge violacé.

Nous ne pouvons donc pas, pour le moment, avoir une opinion bien arrêtée sur cette coloration que nous continuons de pratiquer avec la méthode de Giemsa à chaud.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS. — Pour la mise en évidence des inclusions intracytoplasmiques dans les uréthrites amicrobiennes du type Waelsch, nous avons utilisé plusieurs méthodes de coloration : Castaneda, Macchiavello, Giemsa, bleu de méthylène citraté.

La méthode de Giemsa à chaud, préconisée par Giroud pour la coloration des rickettsies, rapide et facile à exécuter, nous a donné de très bonnes colorations et nous a permis de mettre en évidence les inclusions cellulaires caractéristiques comme en témoignent les microphotographies jointes.

BIBLIOGRAPHIE

- J.-L. BOREL. *La prophylaxie antivenérienne*, 1950, **8**, 308.
 P. DUREL et J.-L. BOREL. *Bulletin Soc. fr. Derm. Syph.*, 1951, n° 2, 144.
 A. A. HARKNESS. *Non gonococcal urethritis*. Levingsstone, édit., Londres, 1950.
 G. MOUSTARDIER. *La documentation du biologiste praticien*, 1952, n° 1, 47.
 POLEFF. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1951, **44**, 535.
 A. SIBOULET. *Presse médicale*, 1951, **59**, 630.

UN CAS DE LISTÉRIOSE DU LIÈVRE EN FRANCE

par A. VALLÉE.

(Institut Pasteur. Service de Microbiologie animale.)

Listeria monocytogenes, depuis son isolement par Hulpheers, en 1911, de foyers nécrotiques du foie d'un lapin, a été retrouvée sur de nombreuses espèces domestiques et sauvages : lapin et cobaye (Murray, Webb, Swann, 1926), gerbille (Pirie, 1927), bœuf (Mathews, 1928), mouton (Gill, 1931), volailles (von Broeck, 1935), chèvre (Seastone, 1939), porc (Biester, Schwarte, 1939), coq de bruyère (Lillengreen, 1942), rat sauvage du Brésil (Macchiavello-Atilio, 1942), cheval (Pirie, 1943), lièvre (Hinricson, 1943), raton laveur (Gifford et Jungheer, 1947), renard argenté (Jansen et Peperkamp, 1947), campagnol (Lévy, 1948), lemming (Plummer et Byrne, 1950).

Enfin on sait que la listériose est transmissible à l'homme chez qui l'identification de la maladie a été faite en 1929 par Nyfeldt.

En France, Forgeot, Truche, Staub et R. Lamy l'observent pour la première fois chez la poule, en 1941. Lesbouyries la retrouve ultérieurement sur le lapin, M. Belin et Lagriffoule sur le mouton, Belin sur le cheval. Si nous sommes bien informé, elle n'a pas encore été signalée, dans notre pays, sur les espèces sauvages. C'est pourquoi nous croyons utile d'attirer l'attention sur le premier cas constaté de listériose du lièvre en France.

Le 9 mai, nous recevons, au Service de Microbiologie animale de l'Institut Pasteur, un cadavre de hase. L'animal, très maigre, le poil piqué et terne, a été surpris et achevé dans un jardin de Villars-en-Azois (Haute-Marne). Il se débattait, pattes en l'air. Un filet de sang s'échappait de la vulve. L'autopsie révèle des lésions d'hépatite dégénérative et une congestion intense de la rate, franchement noire.

Les commémoratifs nous ayant été communiqués tardivement, nous ne nous sommes pas livré à un examen approfondi des organes génitaux.

Les lésions diffèrent de celles décrites par Hinricson [1] et par Wramby [2] seuls auteurs, croyons-nous, à avoir signalé l'affection sur le lièvre, et qui consistent essentiellement en foyers de nécrose

miliaire du foie (3 cas) ou du myocarde (1 cas). Dans ce dernier cas, il s'agissait d'une hase atteinte en outre de métrite chronique et portant un embryon macéré. Les foyers miliaires manquaient sur la hase que nous avons examinée, mais le filet de sang qui s'écoulait de la vulve révélait peut-être une atteinte des voies génitales ayant eu pour conséquence une mise-bas prématurée. (On sait que *Listeria monocytogenes* a été rendue responsable d'avortements sur d'autres espèces.)

Du foie, de la rate, de la moelle nous isolons le germe à l'état pur.

Les propriétés biochimiques de la souche ne diffèrent pas de celles des autres souches que nous possédons. Son action sur l'esculine est très marquée.

Pouvoir pathogène. — Instillée dans le cul-de-sac conjonctival du cobaye la culture de vingt-quatre heures en bouillon (II gouttes) détermine une conjonctivite et une kératite intenses. Trois semaines après l'instillation, on note encore une opacité cornéenne très nette.

4 cm³ de la culture de vingt-quatre heures en bouillon injectés par la voie intramusculaire ne tuent pas le pigeon.

2 cm³ de la même culture injectés par voie intrapéritonéale tuent le lapin en trois jours. Il faut 1 cm³ par cette voie pour tuer le cobaye, 1/10 de centimètre cube pour tuer la souris en trois jours.

La dose de 1/4 de centimètre cube injectée par la voie sous-cutanée tue la souris en trois ou quatre jours.

A noter que les foyers punctiformes de nécrose, qui semblent de règle sur le foie des animaux de laboratoire inoculés, manquaient sur les premiers sujets, inoculés avec la souche d'origine. La lésion essentielle consistait en une dégénérescence massive du foie, devenu gris jaunâtre très clair. Ultérieurement, après plusieurs repiquages, la souche s'est comportée normalement, provoquant la formation de foyers nécrotiques de petites dimensions.

En résumé, *L. monocytogenes* a été isolée pour la première fois en France de l'organisme du lièvre. Ce rongeur y constitue donc une source de contagion possible pour l'homme et nos animaux domestiques.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] T. HINRICSON. *Svensk Vet. Tidskr.*, 1943, **48**, 1.
- [2] W RAMBY. *Skand. Vet. Tidskr.*, 1944, **34**, 277.

HEMAGGLUTINATION ET VIRUS DE LA VARIOLE AVIAIRE

(DEUXIÈME NOTE)

par J. VIEUCHANGE

(Institut Pasteur, Service des Virus.)

Dans une note précédente (1), nous avons rapporté des résultats expérimentaux qui nous avaient autorisé à conclure à l'existence d'un parallélisme étroit entre le comportement du virus de la variole aviaire et celui du virus vaccinal, en ce qui concerne la propriété d'agglutiner les hématies de certains poulets.

Les essais ayant été effectués pendant toute la durée des expériences avec une seule souche de variole aviaire (souche poule) qui nous avait été communiquée par P. Atanasiu, nous avons voulu rechercher si une souche différente était douée du même pouvoir hémagglutinant : nous avons pris la souche pigeon qui sert à préparer le vaccin contre la variole aviaire. Or avec cette souche pigeon, cultivée sur membrane chorio-allantoïdienne de l'embryon de poulet, nous n'avons pu mettre en évidence un pouvoir agglutinant quelconque à l'égard d'hématies, par ailleurs sensibles à l'action du virus vaccinal. Ce résultat a été constamment négatif, quelle qu'ait été la date du prélèvement des membranes chorio-allantoïdiennes infectées : du premier au huitième jour après l'inoculation.

Reprenant alors la souche poule de variole aviaire originelle, nous avons utilisé un matériel (membranes chorio-allantoïdiennes infectées de variole aviaire) conservé à la glacière à -70° depuis deux ans. Nous avons noté l'absence de tout pouvoir hémagglutinant : résultat négatif qui contrastait d'une manière absolue avec les résultats enregistrés tout au long des premiers essais et commentés dans la note précédente.

La comparaison du pouvoir pathogène réciproque de la souche de virus vaccinal, de la souche de variole aviaire originelle dépourvue de propriétés hémagglutinantes et de la souche douée de propriétés hémagglutinantes, comparaison effectuée sur le lapin et sur la poule, nous conduit à penser qu'une contamination de la souche de variole aviaire par le virus vaccinal a pu se produire au départ de nos premiers essais.

Nous sommes maintenant amené à admettre que le virus de la variole aviaire est sans action apparente sur les hématies de poulet. Une conséquence en découle, c'est la possibilité d'utiliser la réaction d'hémagglutination pour faire le diagnostic différentiel de la vaccine et de la variole aviaire : le premier virus ayant le pouvoir d'agglutiner les hématies de certains poulets, le second ne possédant pas cette propriété.

(1) J. Vieuchange et E. Laval. Ces *Annales*, 1952, **82**, 186.

Les communications suivantes paraîtront en *Mémoire* dans les *Annales de l'Institut Pasteur* :

Persistance du caractère lysogène du bacille de Lisbonne en bouillon oxalaté et en milieu synthétique, par J. BEUMER et M^{me} M. P. BEUMER-JOCHMANS.

Fixation des bactériophages spécifiques de l'antigène Vi sur les hématies sensibilisées avec cet antigène, par E. EDLINGER et J. VIEUGHANGE.

Les associations d'antibiotiques sur les germes aérobies. Etude générale et techniques, par Y. CHABBERT.

Fiche réticulo-endothéliale. III. Les méthodes néphélométriques. Les sérums du lapin et du cobaye, par G. SANDOR.

Contribution à l'étude de *Salmonella Dublin*. Nouvelles variétés biochimiques. Classifications, par R. NÉEL, K. JORGENSEN, L. LE MINOR et A. MACHOUN.

LIVRES REÇUS

A. Albert. — *The acridines. Their preparation physical, chemical and biological properties and uses*. Richard Clay and Co, édit., Bungay, Suffolk, 1951, 345 p., 32 fig.

Jusqu'ici aucun livre concernant les acridines n'avait été publié. Le livre d'A. Albert qui contient de nombreuses références vient combler cette lacune. Il concerne les propriétés physiques, chimiques et biologiques des acridines et les rapports de ces propriétés entre elles. Dans les huit premiers chapitres l'auteur présente les méthodes de synthèse des acridines classées selon leur utilité pratique et leurs buts. Les principes généraux auxquels sont dus le succès ou l'insuccès d'une opération sont mis en évidence. Des préparations typiques sont décrites. Elles ont toutes été contrôlées par l'auteur ou par ses collègues. Les huit chapitres suivants sont consacrés à la description des propriétés physiques et chimiques de l'acridine et de ses principaux dérivés. Les rapports entre les propriétés des acridines et la répartition des électrons sont particulièrement discutés. Le dernier tiers du livre concerne les propriétés biologiques et les usages médicaux et autres des acridines. Il est suivi de diverses tables, entre autres, d'un index des préparations chimiques qui sera utile à tout chimiste s'intéressant à la synthèse des acridines. De nombreux collaborateurs ont participé à la mise au point de questions particulières ; ce livre mérite une large diffusion.

M. G.

J. Nicolle. — *La symétrie et ses applications.* Collection. Les Sciences d'aujourd'hui. Editions Albin Michel, Paris, 1951. Prix 390 fr.

L'auteur s'est attaqué au problème de la symétrie dans les phénomènes naturels aussi bien physiques que biologiques : c'est précisément ce rapprochement qui fait l'intérêt de l'ouvrage. Après une théorie générale de la symétrie, traitée du point de vue géométrique et mathématique, l'auteur passe rapidement sur la plus classique de ses applications, représentée par la cristallographie dont il rappelle les bases essentielles : il en tire des développements intéressants qui le conduisent à l'étude de la symétrie à l'échelle moléculaire, transition naturelle pour envisager la symétrie dans les systèmes biologiques.

Cet ouvrage, qui abonde en vues originales et en déductions suggestives, se lit avec plaisir ; il demande toutefois de la part du lecteur une certaine formation mathématique pour pouvoir suivre les développements de l'auteur, notamment lorsqu'il aborde la notion de groupes, qui constitue la partie la plus imprévue de l'ouvrage.

Bien que traitant une matière abstraite, l'exposé ne perd jamais de vue les applications pratiques ni les incidences de la théorie sur la pensée scientifique. Présenté et préfacé par L. de Broglie, ce livre constitue une illustration et souvent un développement des conceptions de Pasteur et de Pierre Curie : l'auteur a réussi le tour de force de se montrer à la hauteur d'un tel parrainage.

P. L.

J. R. Busvine. — *Insects and Hygiene.* Methuen, London, 1951. Prix : 30 sh.

L'auteur, qui enseigne l'entomologie à la London School of Hygiene and Tropical Medicine, était particulièrement qualifié pour rédiger cet ouvrage, essentiellement destiné aux habitants de Grande-Bretagne. Il y étudie successivement les insectes : leur écologie, les moyens de lutte contre les différents insectes, les insecticides, puis passe en revue les insectes nuisibles rencontrés dans les Iles britanniques.

Il s'agit là non seulement des insectes inoculateurs de maladies de l'homme ou du bétail, des insectes parasites ou de ceux qui constituent une simple nuisance, mais également de tous ceux qui s'attaquent aux produits alimentaires, aux tissus et aux lainages, au bois, aux détritiques de toute nature, etc. Comme les espèces en cause diffèrent peu de celles rencontrées dans toute l'Europe occidentale et en France en particulier, ce livre sera consulté avec intérêt par tous ceux qui s'intéressent à la question.

P. L.

J. Lhermitte. — *Les leuco-encéphalites.* Editions Médicales Flammarion. Paris, 1950. Prix : 1 650 fr.

Ce livre est la présentation en librairie de la thèse volumineuse et documentée de l'auteur. Il est consacré aux infections inflammatoires non suppurées de la substance blanche névraïque, maladies dont l'étiologie et la pathologie restent encore mystérieuses. Il montre du reste fort bien la complexité de ces affections d'étiologies diverses

ayant en commun la lésion essentielle : la démyélinisation. Après une étude détaillée des leuco-encéphalites humaines, représentées essentiellement par le syndrome dénommé aujourd'hui l'encéphalite péri-veineuse, l'auteur traite les leuco-encéphalites animales et les leuco-encéphalites expérimentales. A propos de chacune d'elles, l'étiologie et le mécanisme pathogénique sont passés en revue.

L'essentiel constitue une excellente et très complète mise au point de la question. De nombreuses illustrations, une bibliographie contenant 599 références complètent l'ouvrage. Quelques erreurs et quelques oublis que l'on peut y relever sont d'une gravité minime et pourront être corrigés dans une édition ultérieure.

P. L.

Fifty Years of Medicine. British Medical Association, London, 1950.
Prix : 15 sh.

La British Medical Association a eu l'heureuse inspiration de réunir en un volume les articles consacrés l'an passé par le *British Medical Journal* à une sorte d'inventaire des progrès de la médecine au cours des cinquante premières années de ce siècle : thérapeutique, chirurgie, obstétrique, pathologie, médecine coloniale, etc.

Chacun des articles est signé par un auteur spécialement compétent ou par un nom illustre de la médecine britannique contemporaine.

Le point de vue de chacun des auteurs est essentiellement britannique et l'accent est surtout mis sur les travaux et les recherches d'origine anglaise, ce qui n'en réduit pas l'intérêt, au contraire. Il faut pourtant regretter de voir reproduites ou perpétuées un certain nombre d'erreurs classiques comme la découverte par la Commission américaine de la transmission de la fièvre jaune par un moustique (alors que les expériences justement célèbres de la Commission ne faisaient, sur ce point particulier, que confirmer les recherches de Carlos Finlay), ou l'attribution à Kitasato au même titre qu'à Yersin de la découverte du bacille pesteux (alors que l'antériorité de Yersin n'est plus aujourd'hui discutable).

Il se trouve assez curieusement que le meilleur des articles, et de beaucoup, par sa largeur de vues et son objectivité historique, est celui rédigé par Charles Singer, qui passe en revue les progrès de la médecine de 1850 à 1900. L'ensemble de l'ouvrage n'en est pas moins plaisant à lire et agréablement illustré.

P. L.

TABLE ANALYTIQUE

DU TOME 83

<i>Actinomycoses</i> . Reproduction expérimentale des — à <i>Actinobacterium baudeti</i> et <i>A. cellulitis</i>	186
<i>Albumine humaine</i> . Substitution de l' — — à l'albumine bovine dans le milieu de survie de Nelson pour <i>Treponema pallidum</i>	415
<i>Alexine</i> . Voir <i>Calcium</i> .	
<i>Allergie</i> . Tuberculose du cobaye par inoculation intraganglionnaire. Etude de l' —	393
<i>Anaérobies</i> . Le lait peut-il transmettre les maladies — ?	180
— <i>Lyophilisation</i>	367
— Voir aussi <i>Eau oxygénée</i>	102
<i>Anémies hémolytiques</i> expérimentales chez les ovidés.	666
<i>Anneau</i> (ring-test). Epreuve pour la détection de la brucellose ovine.	277
<i>Antibiotiques</i> . Comparaison de souches bactériennes résistantes à des — avec des souches sensibles de mêmes espèces.	80
<i>Anticorps</i> . Voir <i>Cortisone</i> .	
— <i>sériques</i> du type Lansing chez les habitants de la Province de Québec.	1
— <i>spirillicides</i> . Voir <i>Borrelia duttoni</i> .	
<i>Antigène</i> . Utilisation du cardiolipide et de la lécithine dans la préparation de l' — pour la réaction de clarification de Meinicke.	234
— <i>H</i> . Dissociation de <i>S. paratyphi A</i> liée à l' — —.	167
— <i>méthylque</i> . Résistance antituberculeuse sans allergie conférée aux animaux de laboratoire par l' — —. Durée et action préventive associée à celle du BCG.	429
— <i>O</i> . Dosage dans des microbes de nombreuses souches de <i>S. typhi</i>	528
— <i>Vi</i> . Etude à l'aide d'une technique d'hémagglutination passive.	173
<i>Antipesteux</i> . Propriétés non spécifiques d'un sérum de cheval hyperimmunisé.	423
<i>Antistreptokinase</i> . Détermination quantitative de l' —	248
<i>Azote atmosphérique</i> . Pouvoir fixateur de l' — — des terres de régions tropicales.	713
<i>Bacille de Whitmore</i> . Action du — — sur les hématies de différentes espèces animales.	413
<i>Bacille lysogène de Lisbonne</i> . Phages produits par le — — — et leurs exigences en calcium.	582
<i>Bacilles acido-alcool-résistants</i> . Mise en évidence <i>in vitro</i> de la « non virulence » de germes — — — par une réaction au bleu de Nil.	809

<i>Bacilles entomophytes</i> . Virulence pour <i>Bombyx mori</i> L (<i>Lepidoptera</i>) de divers — — du groupe <i>cereus</i>	634
<i>Bacilles paracoli</i> . Voir <i>Salmonella</i> .	
<i>Bacilles tuberculeux</i> . Coloration à froid des — —.	268
(Voir aussi <i>Tuberculose</i>).	
— — Action bactéricide de l'isoniazide sur le — —.	769
— — Action combinée <i>in vitro</i> de l'INH et de la streptomycine sur — —.	273
— — Isolement du — — dans les produits pathologiques souillés. L'épuration microbienne résolue par l'homogénéisation pepsine-soude.	805
— — Milieux de culture modernes utilisés pour l'isolement du — —.	338
— — Protection par la streptomycine, l'INH et le PAS du cobaye tuberculisé par voie intradermique.	803
— — La résistance acquise de <i>M. tuberculosis</i> à l'égard de l'INH.	800
<i>Bacillus anthracis</i> . Culture en milieu calcique et en milieu oxalaté.	38
<i>Bacillus cereus</i> var. <i>alesti</i> (Toum. et Vago).	421
<i>Bacillus laterosporus</i> . Voir <i>Malleomyces pseudomallei</i> .	
<i>Bacillus megatherium</i> . Sporulation de — —.	71
<i>Bactériennes</i> (souches). Réactivité des souches — vis-à-vis des phages.	653
<i>Bactéries</i> . Numération directe.	142
— irradiées. Restauration induite par la catalase chez des — —.	515
— sulfato-réductrices. Métabolisme des acides aminés et des amides par les — —.	786
<i>Bactériophages</i> . Biosynthèse induite d'un enzyme pendant le développement des — chez <i>Escherichia coli</i> K 12.	745
— Développement spontané et induit des — chez des <i>Pseudomonas pyosyanea</i> polylysogènes.	671
— et Entérobactéries chez les poissons de mer et problème des eaux polluées.	46
— Recombinants génétiques de souches marquées par résistance aux colicines et aux — —.	284
BCG. Voir <i>Antigène méthylique</i> .	
<i>Borrelia duttoni</i> . Immobilisines anti-récurrentielles.	256
— — Les — — devenus résistants aux anticorps spirillicides, se révèlent-ils réfractaires aux immobilisines de Nelson et Mayer ?	437
Brazzaville. Epidémie de rage canine survenue à — —.	410
<i>Brucella</i> . Une nouvelle « espèce » de — : <i>Br. intermedia</i>	814
— Hémagglutination passive d'hématies sensibilisées par antigènes brucelliques ou des substances solubles spécifiques.	810
<i>Brucellose ovine</i> . Epreuve de l'anneau (ring-test) pour la détection de la — —.	277
<i>Calcium</i> . Exigences en — des phages produits par le bacille lysogène de Lisbonne.	582

<i>Calcium</i> et alexine.	561
<i>Candida</i> . Etude de 44 souches de — isolées à Saigon par bilicuture.	816
— Etude de 66 souches de — isolées à Saigon de prélèvements pharyngiens.	818
<i>Catalase</i> chez certains anaérobies stricts.	443
— Restauration induite par la — chez des bactéries irradiées.	515
<i>Cellules-micro-organismes</i> . Méthodes d'étude et de mesure du conflit — —	384
<i>Cellvibrio</i> . Technique d'isolement des —.	417
<i>Cheval</i> . Voir Sérums antigangréneux.	
<i>Chevaux</i> . Groupes sanguins.	405
<i>Cobaye</i> . Tuberculose du — par inoculation intraganglionnaire. Etude de l'allergie.	393
<i>Colicine</i> . Biosynthèse d'une — et son mode d'action.	295
— Voir <i>Bactériophages</i> .	
<i>Corps de Negri</i> . Présence chez certains animaux de laboratoire d'in- clusions neuronales cytoplasmiques colorées en rouge par le Mann pouvant simuler des — — et différenciées par l'hématoxylène de Mallory.	412
<i>Cortisone</i> et ACTH. Etude sur la production des anticorps.	26
<i>Eau oxygénée</i> . Formation et décomposition de l' — — par les bactéries anaérobies.	102
— polluées. Voir <i>Bactériophage</i> .	
<i>Entérobactériacées</i> . Réaction d'hémagglutination passive et d'hémo- lyse directe au moyen de globules rouges sensibilisés par des substances solubles O et Vi d' —.	62
<i>Entérobactéries</i> . Voir <i>Bactériophage</i> .	
<i>Escherichia coli</i> colicinogène induit.	555
<i>Grippe du Porc</i> . Voir <i>Maroc</i> .	
<i>Groupes sanguins</i> des équidés. Groupes sanguins des chevaux.	405
<i>Hamster doré</i> . Voir <i>Histoplasmose</i> .	
<i>Hémagglutination</i> . Voir <i>Vaccine</i> .	
<i>Hémolyse</i> . Immunologie de l' —. Modalités de l'action inhibitrice des sérums normaux	323
<i>Histoplasmose</i> expérimentale chez le hamster doré.	381
<i>Hyaluronidase</i> . Influence de l' — sur les propriétés thérapeutiques du sérum antivenimeux.	640
<i>Hydrazide</i> de l'acide isonicotinique seul et combiné avec d'autres produits. Action <i>in vitro</i>	130
<i>Hydrazide isonicotinique</i> . Dissociation des pouvoirs bactério- statique et bactéricide de l' — — <i>in vitro</i>	134
— — Traitement de la tuberculose expérimentale de la souris par l' — —.	397
<i>Immobilisines</i> de Nelson et Mayer. Voir <i>Borrelia duttoni</i> .	
<i>Immunité</i> dans les infestations parasitaires.	726

<i>Inclusions</i> . Coloration des — uréthrales par la méthode de Giemsa à chaud.	829
<i>Isonicotinhydrazide</i> (INH). Activité antituberculeuse.	127
<i>Kurdistan</i> . Caractères biochimiques des souches de peste « sauvage » du —.	241
<i>Lait</i> . Le — peut-il transmettre les maladies anaérobies ?	180
<i>Leptospires</i> du Sud-Viet-Nam.	608
<i>Listériose</i> . Un cas de — du lièvre en France.	832
<i>Malleomyces pseudo-mallei</i> et <i>Bacillus laterosporus</i> . Diagnostic différentiel d'exception.	138
— Pouvoir chromogène de —.	822
<i>Maroc</i> . Présence au — d'une infection épizootique du type de la grippe du porc.	141
<i>Meinicke</i> . (Réaction de clarification de —.) Voir <i>Antigène</i> .	
<i>Microflore</i> . Voir <i>Sol</i> .	
<i>Moutons</i> . Groupes sanguins.	576
<i>Mulets</i> . Groupes sanguins des —.	57
<i>Mycobactéries</i> . Etude spectrosopique de la coloration par les — sous l'influence du rouge neutre.	402
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> . Variations de la sensibilité de — — aux antibiotiques en milieux de culture liquides.	491
<i>Myocardite</i> de la poliomyélite.	151
<i>Neisseria winogradskyi</i> . Utilisation en compétition du β -hydroxybutyrate de sodium par —.	391
<i>Nuoc-Mam</i> . Etude par microchromatographie.	
<i>Nutrition</i> . Troubles de la — chez le nourrisson et l'enfant vietnamien.	595
<i>Ovidés</i> . Anémies hémolytiques expérimentales chez les —. . . .	666
<i>Parasites</i> . Voir <i>Immunité</i> .	
<i>Peste</i> « sauvage » du Kurdistan.	241
<i>Phages</i> . Types réactionnels des souches vis-à-vis des — et leurs variantes.	464
<i>Phagocyte</i> , élément sélecteur de toxines.	145
<i>Poissons de mer</i> . Voir <i>Bactériophage</i> .	
<i>Poliomyélite</i> . Myocardite de la —.	151
— Observations biologiques et expérimentales recueillies au cours de l'épidémie de — à Malmö, en 1949.	755
<i>Porc</i> (grippe du). Voir <i>Maroc</i> .	
<i>Protéides</i> . Influence de l'élimination rénale sur l'antigénicité des —. . . .	705
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , forme muqueuse.	820
— <i>fluorescents</i> du sol utilisant en compétition le β -hydroxybutyrate de sodium.	316
<i>Québec</i> . Voir <i>Anticorps sériques</i> .	
<i>Rage</i> . Epidémie de — canine survenue à Brazzaville.	410
— Voir <i>Vaccinations antirabiques</i> .	
— Voir <i>Virus rabique fixe</i> .	

<i>Rickettsies</i> . Comportement des — pathogènes chez les poissons et les amphibiens.	825
<i>Salmonella</i> . Distinction rapide entre — et bacilles paracoli du groupe Ballerup-Bethesda.	156
— <i>typhi</i> . Variante analogue à la souche O 901.	408
<i>Salmonelles</i> . Formes rugueuses.	539
<i>Sang</i> . Groupes sanguins des moutons.	576
— Groupes sanguins des mulets.	57
— Influence des enzymes protéolytiques sur l'agglutinabilité des globules rouges par les virus.	136
Sérum. Voir <i>Anticorps sériques</i> .	
Sérum <i>antivenimeux</i> . Voir <i>Hyaluronidase</i> .	
— <i>de cheval</i> . Propriétés non spécifiques d'un — — hyperimmunisé (antipesteux). Importance de l'euglobuline 1 ₁ de Sandor.	423
— <i>antigangréneux</i> . Propriétés au cours de l'immunisation du cheval	360
— <i>normaux</i> . Voir <i>Hémolyse</i> .	
<i>Sol</i> . Action inhibitrice des extraits aqueux de tourbe sur la croissance des germes du —.	196
— Pouvoir ammonifiant réel et potentiel du — dans ses rapports avec la microflore.	200
— Puissance dénitrifiante du —.	207
— Richesse d'un — en microorganismes nitrificateurs.	118
— acides. Acides humiques dans la préparation de milieux pour l'étude écologique de la microflore des —.	282
<i>S. paratyphi</i> A. Association de — liée à l'antigène H.	167
<i>Spirochaeta gallinarum</i> . Immobilisines actives à l'égard du —.	260
<i>Sporotrichum schencki</i> . Facteurs déterminant le développement de la phase levure de — —.	306
<i>Staphylocoques pathogènes</i> . Types de résistance aux antibiotiques chez les — —.	499
<i>Streptomycine</i> . Action comparée de la — et de la dihydrostreptomycine sur la croissance de tissus de carottes cultivés <i>in vitro</i> et sur un bacille de Koch streptomycino-dépendant.	400
— Effet sur la tuberculose expérimentale du cobaye, de l'association de l'iodochloroxyquinoléine avec une dose subactive de —.	275
— La tuberculose expérimentale du cobaye à bacilles streptomycino-dépendants.	270
— Action combinée <i>in vitro</i> de l'INH et de la — sur le bacille de Koch.	273
<i>S. typhi</i> . Dosage de l'antigène O dans des microbes de nombreuses souches de —.	528
<i>Surrénalectomie</i> . Voir <i>Virus rabique fixe</i> .	
<i>Surrénales</i> et infection.	213
<i>Temps de survie</i> . Calcul du « point 50 p. 100 » de Reed et Muench en fonction du — — mesuré dans une cage enregistreuse.	372

<i>Toxines. Voir Phagocyte.</i>	
— <i>tétanique</i> . Formation par des suspensions de corps microbiens.	693
<i>Treponema pallidum</i> . Le — — dévitalisé par le rayonnement ultra-violet est-il un antigène immobilisant ?	263
<i>Tréponèmes tués</i> . Test de Nelson et — —.	254
<i>Tuberculose</i> . Activité antituberculeuse de l'isonicotinhydrazide (INH).	127
— Coloration à froid des bacilles tuberculeux.	268
— expérimentale du cobaye à bacilles streptomycino-dépendants.	270
— Action combinée de l'INH et de la streptomycine sur le bacille de Koch.	273
— du cobaye par inoculation intraganglionnaire. Etude de l'allergie.	393
— expérimentale de la souris. Traitement discontinu par l'hydrazide isonicotinique (isoniazide)	397
— expérimentale du cobaye et association de l'iodochloroxyquinoléine avec une dose subactive de streptomycine.	275
— Nouveau cas de pseudo- — humaine.	420
— Résistance antituberculeuse sans allergie conférée aux animaux de laboratoire par l'antigène méthylique. Durée et action préventive associée à celle du BCG.	429
<i>Ultra-violet</i> s. Action des rayons — — sur le pouvoir hémagglutinant et le pouvoir infectieux du virus de Newcastle.	478
<i>Vaccinations antirabiques</i> à l'Institut Pasteur en 1951.	21
<i>Vaccine</i> . Etude au microscope électronique de l'hémagglutination due à la — —.	487
<i>Variole aviaire</i> . Hémagglutination et virus de la — —.	834
<i>Verre à soie</i> . Nature de l'affection des — — due à <i>Bacillus cereus</i> var. <i>alesti</i> .	421
<i>Vibrio fœtus</i> . Recherches immunochimiques. Etude de 10 souches d'origines diverses.	449
— Fractionnement chimique des corps microbiens et étude de deux fractions antigéniques.	455
— Type respiratoire de — —.	266
<i>Virus. Voir Sang.</i>	
— de la maladie de Newcastle. Propriétés inhibitrices de l'agglutination par le — — — dans les sérums de malades atteints d'anémie hémolytique acquise et d'autres syndromes hémolytiques.	407
— de Newcastle. Voir <i>Ultraviolets</i> .	
— <i>rabique fixe</i> . Syndrome hématologique du rat blanc inoculé de — — —.	774
— Action de la surrénalectomie chez le rat blanc inoculé de — — —.	781
<i>Zuberella constellata</i> . Espèce nouvelle.	139

TABLE ALPHABÉTIQUE PAR NOMS D'AUTEURS

DU TOME 83

Notice nécrologique.

Jean BABLET (1886-1952).	721
--------------------------	-----

AIROFF (M ^{me}). — Action <i>in vitro</i> de l'hydrazide de l'acide isonicotinique seul et combiné avec d'autres produits.	130
— et SALAS (M ^{lle}). — Action combinée <i>in vitro</i> de l'I. N. H. et de la streptomycine sur le bacille de Koch.	273
ALADAME (N.). — Voir MOUREAU (M.).	
AMBERT (J.). — Isolement du B. K. dans les produits pathologiques souillés. L'épuration microbienne résolue par l'homogénéisation pepsine-soude.	805
ASLANI (P.). — Voir BALTAZARD (M.).	
ATANASIU (P.) et SOUTO PATULEIA (M ^{lle}) — Action des rayons ultraviolets sur le pouvoir hémagglutinant et le pouvoir infectieux du virus de Newcastle.	478
BABLET (J.) et CANET (J.) [avec le concours technique de KVIATKOVSKY (M ^{me})]. — Etude histopathologique des troubles de la nutrition chez le nourrisson et l'enfant vietnamien.	595
BAILLY (N.). — Voir BUTTIAUX (R.).	
BALTAZARD (M.) et ASLANI (P.). — Caractères biochimiques des souches de peste « sauvage » du Kurdistan.	241
BARJAC (H. DE). — La puissance dénitrifiante du sol. Mise au point d'une technique d'évaluation.	267
— Les acides humiques dans la préparation de milieux pour l'étude écologique de la microflore des sols acides.	279
— Voir COPPIER (M ^{lle}).	
— Voir POCHON (J.).	
BÉGUIN (M ^{me}) et GRABAR (M ^{me}). — Etudes sur les formes rugueuses des Salmonelles.	539
BELJANSKI (M.). — Comparaison de souches bactériennes résistantes à des antibiotiques avec des souches sensibles des mêmes espèces.	80

BEQUIGNON (R.) et VIALAT (C.). — Les vaccinations antirabiques à l'Institut Pasteur en 1951.	21
BERTOYE (A.) et DETOLLE (P.). — A propos de la détermination quantitative de l'antistreptokinase.	248
BETZ-BAREAU (M.). — Voir FREDERICQ (P.).	
BEUMER (J.) et BEUMER-JOCHMANS (M ^{me}). — Etude des phages produits par le bacille lysogène de Lisbonne et de leurs exigences en calcium.	582
BEUMER-JOCHMANS (M ^{me}). — Voir BEUMER (J.).	
BLACHÈRE (H.). — Voir VILLECOURT (P.).	
— , VILLECOURT (P.) et JACOBELLI (G.). — Utilisation en compétition du β -hydroxybutyrate de sodium par <i>Neisseria winogradskyi</i>	391
BLOSS (M ^{me}). — Etude du Nuoc-Mam par microchromatographie.	791
BOISVERT (H.). — Voir CALMELS (J.-R.).	
BONIFAS (V.) et NOVEL (E.). — Numération directe des bactéries.	142
BOQUEL (M ^{le}). — Voir KAUFFMANN (J.).	
BOQUET (P.), BUSSARD (A.) et ISARD (Y.) [avec la collaboration technique de D. LESIMPLE]. — Influence de l'hyaluronidase sur les propriétés thérapeutiques du sérum antivenimeux.	640
BOREL (J.-L.). — Voir GASTINEL (P.).	
BOYER (F.). — Voir CHEDID (L.).	
BRUN (J.), VIALIER (J.) et KALB (J.-C.). — La tuberculose expérimentale du cobaye à bacilles streptomycino-dépendants.	270
BRYGOO (E.-R.). — Action du bacille de Whitmore sur les hématies de différentes espèces animales	413
— Etude de 44 souches de <i>Candida</i> isolées à Saïgon par bilit-culture	816
— Etude de 66 souches de <i>Candida</i> isolées à Saïgon de prélèvements pharyngiens	818
— <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , forme muqueuse.	820
— Un diagnostic différentiel d'exception <i>Malleomyces pseudomallei</i> et <i>Bacillus laterosporus</i>	138
— Voir KOLOCHINE-ERBER (M ^{me}).	
— Voir MARTRES (M.).	
— et RICHARD (C.). — Pouvoir chromogène de <i>Malleomyces pseudomallei</i>	822
BUSSARD (A.). — Voir BOQUET (P.).	
BUTHIAUX (R.) [avec la collaboration de J. FLAMENT et N. BAILLY]. — Distinction rapide entre <i>Salmonella</i> et bacilles paracoli du groupe <i>Ballerup-Bethesda</i>	156
CALMELS (J.-R.) et BOISVERT (H.). — Etude comparative de quelques milieux de culture modernes utilisés pour l'isolement du bacille tuberculeux	338
CANET (J.). — Voir BABLET (J.).	

- CARRAZ (M.). — Voir NÉTIEN (G.).
- CARRÈRE (L.) et ROUX (J.). — Etude expérimentale de la cortisone et de l'ACTH sur la production des anticorps. 26
- — Hémagglutination passive d'hématies sensibilisées par antigènes brucelliques ou des substances solubles spécifiques 810
- — et QUATREFAGES (H.). — L'épreuve de l'anneau (ring-test) pour la détection de la brucellose ovine. 277
- CATEIGNE (G.). — Voir EYQUEM (A.).
- CHABBERT (Y.) et TERRIAL (G.). — Evolution actuelle des types de résistance aux antibiotiques chez les staphylocoques pathogènes. 499
- CHAIGNEAU-ERHARD (H.). — Voir LEVADITI (C.).
- CHALVIGNAC (M.-A.). — Recherches sur les techniques d'isolement des *Cellvibrio*. 417
- CHAMBON (Y.) et GALÉA (M.). — Syndrome hématologique du rat blanc inoculé de virus rabique fixe 774
- — Action de la surrénalectomie chez le rat blanc inoculé de virus rabique fixe. 781
- CHEDID (L.), BOYER (F.) et SAVIARD (M.). — Surrénales et infection. 213
- CIACCIO (G.). — Comportement des rickettsies pathogènes (*R. prowazeki*, *R. mooseri*) chez les poissons et les amphibiens. Leur localisation, la production des anticorps. 825
- COLETOS (P.-J.). — Variations de la sensibilité de *Mycobacterium tuberculosis* aux antibiotiques en milieux de culture liquides. 491
- COLLART (P.). — Voir GASTINEL (P.).
- COMBES (R.). — Voir STAUB (A.-M.).
- COPPIER (O.) et BARJAC (H. DE). — De la richesse d'un sol en micro-organismes nitrificateurs. 118
- et POCHON (J.). — Pouvoir ammonifiant réel et potentiel du sol dans ses rapports avec la microflore. 200
- CORVAZIER (P.). — Etude de l'antigène Vi à l'aide d'une technique d'hémagglutination passive. 173
- COUTEL (Y.). — Voir GASTINEL (P.).
- CROS (R.). — Voir KOLOCHINE-ERBER (M^{me}).
- DAUSSET (J.). — Voir EYQUEM (A.).
- DELAPORTE (B.). — Etude cytologique d'un *Escherichia coli* colicinogène induit. 555
- DELAVIER (C.). — Voir GRUNBERG-MANAGO (M^{me}).
- DESBORDES (J.). — Mise en évidence *in vitro* de la « non virulence » de germes A. A. R. par une réaction au bleu de Nil. 809
- , FOURNIER (E.) et GUYOTJEANNIN (C.). — Nouvelle application de l'usage des corps tensio-actifs en physiologie bactérienne. Coloration à froid des bacilles tuberculeux. 268

DESCHIEUS (R.) et POIRIER (M.). — L'immunité dans les infestations parasitaires.	725
DESLANDES (M.). — Voir NOUFFLARD (H.).	
DETOLLE (P.). — Voir BERTOYE (A.).	
DEVIGNAT (R.). — Calcul du « point 50 p. 100 » de Reed et Muench en fonction du temps de survie mesuré dans une cage enregistreuse.	372
DROUHET (E.) et MARIAT (F.). — Etude des facteurs déterminant le développement de la phase levure de <i>Sporotrichum schenckii</i>	506
— et SEGRETAIN (G.). — Histoplasmose expérimentale chez le hamster doré.	381
DUCHON (L.). — Le phagocyte, élément sélecteur de toxines.	145
— Précisions sur la méthode d'étude et de mesure du conflit cellules-microorganismes.	384
DUJARRIC DE LA RIVIÈRE (R.), EYQUEM (A.) et MILLOT (P.). — Les groupes sanguins des moutons.	576
EYQUEM (A.). — Voir DUJARRIC DE LA RIVIÈRE (R.).	
— et DAUSSET (J.) [avec la collaboration de M. JACUBEIT]. — Recherche des propriétés inhibitrices de l'agglutination par le virus de la maladie de Newcastle dans les sérums de malades atteints d'anémie hémolytique acquise et d'autres syndromes hémolytiques	407
— , HANNOUN (C.) et CATEIGNE (G.). — Influence des enzymes protéolytiques sur l'agglutinabilité des globules rouges par les virus.	136
— , MILLOT (P.) et ROBIN (J.). — Les anémies hémolytiques expérimentales chez les ovidés.	666
— et PODLIACHOUK (L.). — Les groupes sanguins des équidés. — I. Les groupes sanguins des mulets.	57
— Voir PODLIACHOUK (L.).	
FAURE (M.) et PAUTRIZEL (R.). — L'utilisation du cardiolipide et de la lécithine dans la préparation de l'antigène pour la réaction de clarification de Meinicke (M. K. R. II).	234
FLAMENT (J.). — Voir BUTTIAUX (R.).	
FOURNIER (E.). — Voir DESBORDES (J.).	
FREDERICQ (P.) et BETZ-BAREAU (M.). — Recombinants génétiques de souches marquées par résistance aux colicines et aux bactériophages.	284
GALÉA (M.). — Voir CHAMBON (Y.).	
GALLAND (R.) et MAILLET (J.). — Protection par la streptomycine, l'INH et le PAS du cobaye tuberculisé par voie intradermique.	803
GALLUT (J.). — Recherches immuno-chimiques sur <i>Vibrio fœtus</i> . — I. Etude sérologique préliminaire de 10 souches d'origines diverses	449

- GALLUT (J.). — II. Fractionnement chimique des corps microbiens et étude sérologique de deux fractions antigéniques. 455
- GASTINEL (P.), COLLART (P.) et BOREL (J.-L.). — Test de Nelson et tréponèmes tués. 254
- et COUTEL (Y.). — Tuberculose du cobaye par inoculation intraganglionnaire. Etude de l'allergie. 393
- GENGOU (O.). — Calcium et alexine. 561
- GEOFFROY (M.). — Voir GUILLAUMIE (Maylis).
- GIUNTINI (J.). — Voir VIEUCHANGE (J.).
- GRABAR (P.). — Voir LAPRESLE (C.).
- GRABAR (M^{me} J.). — Voir BÉGUIN (M^{me} S.).
- GRABAR (M^{me} J.). — Voir LE MINOR (L.).
- GRELET (N.). — Le déterminisme de la sporulation de *Bacillus megatherium*. — IV. Constituants minéraux du milieu synthétique nécessaires à la sporulation. 71
- GRUMBACH (F.), RIST (N.) et RIEBEL (J.). — Traitement discontinu de la tuberculose expérimentale de la souris par l'hydrazide isonicotinique (isoniazide) 397
- GUELIN (A.). — Bactériophage et entérobactéries chez les poissons de mer et le problème des eaux polluées. 46
- GUILLAUMIE (Maylis), KREGUER (A.), GEOFFROY (M.) et READE (G.). — Propriétés de divers sérums antigangréneux au cours de l'immunisation du cheval. 360
- GUYOTJEANNIN (Ch.). — Voir DESBORDES (J.).
- HAMELIN (A.). — Voir LEVADITI (C.).
- Voir VAISMAN (A.).
- HANNOUN (C.). — Voir EYQUEM (A.).
- HENRY-EVENO (J.). — Voir LEVADITI (C.).
- HUSS (Ragnar), KLING (Carl) et NORLIN (Gunnar). — Quelques observations biologiques et expérimentales recueillies au cours de l'épidémie de poliomyélite à Malmö en 1949. . 755
- ISARD (Y.). — Voir BOQUET (P.).
- JACOB (F.). — Développement spontané et induit des bactériophages chez des *Pseudomonas pyocyanea* polylysogènes. . . . 671
- Voir SIMINOVITCH (L.).
- , SIMINOVITCH (L.) et WOLLMAN (E.). — Sur la biosynthèse d'une colicine et sur son mode d'action. 295
- JACOBELLI (G.). — Voir BLACHÈRE (H.).
- Voir VILLECOURT (P.).
- JACUBEIT (M.). — Voir EYQUEM (A.).
- KALB (J.-C.). — Voir BRUN (J.).
- Voir NÉTIEN (G.).
- KAUFFMANN (J.), TOUSSAINT (P.) et BOQUEL (M^{le}). — Sur le pouvoir fixateur de l'azote atmosphérique des terres de régions tropicales. 713

- KLING (Carl). — Voir HUSS (Ragnar).
- KOLOCHINE-ERBER (M^{me}), BRYGOO (E.-R.), CROS (R.) et LAJUDIE (P. DE).
— Contribution à l'étude des leptospires du Sud-Viet-Nam. 608
- KREGUER (A.). — Voir GUILLAUMIE (Maylis).
- LAJUDIE (P. DE). — Voir KOLOCHINE-ERBER (M^{me}).
- LAPORTE (R.). — Immunologie de l'hémolyse. Modalités de l'action
inhibitrice des sérums normaux. 323
- LAPRESLE (C.) et GRABAR (P.). — Etude de l'influence de l'élimi-
nation rénale sur l'antigénicité des protéides. 705
- LARUELLE et REUMONT. — La myocardite de la poliomyélite. . . . 151
- LE MINOR (L.). — Une dissociation de *S. paratyphi* A liée à l'anti-
gène H. 167
- LE MINOR (L.) et GRABAR (J.). — Réaction d'hémagglutination
passive et d'hémolyse directe au moyen de globules rouges
sensibilisés par des substances solubles O et Vi d'Entéro-
bactériacées. 62
— — Une variante de *Sal. typhi* analogue à la souche O 901. 408
- LÉPINE (P.). — Voir PAVILANIS (V.).
- LEVADITI (C.) et HENRY-EVENO (J.). — La résistance acquise de
M. tuberculosis à l'égard de l'isonicotinhydrazide (INH). 800
— , VAISMAN (A.) et CHAIGNEAU-ERHARD (H.). — Activité anti-
tuberculeuse de l'isonicotinhydrazide (INH). 127
— — et HAMELIN (A.). — Les *Borrelia duttoni*, devenus
résistants aux anticorps spirillicides, se révèlent-ils réfrac-
taires aux immobilisines de Nelson et Mayer ? 437
— — — Les immobilisines anti-récurrentielles (*Borrelia*
duttoni) 256
— — — Les immobilisines actives à l'égard du *Spirochaeta*
gallinarum. 260
— Voir VAISMAN (A.).
- MAILLET (J.). — Voir GALLAND (R.).
- MARIAT (F.). — Voir DROUHET (E.).
- MARTRES (M.), BRYGOO (E.-R.) et THOUVENOT (H.). — Etude d'une
espèce nouvelle du genre *Zuberella* : *Z. constellata* n. sp. 139
- MAZUREK (C.), TARDIEUX (P.) et PRÉVOT (A.-R.). — Recherches sur la
reproduction expérimentale des actinomycoses à *Actino-*
bacterium baudeti et *Actinobacterium cellulitis*. . . . 186
- MILETIC (B.) et MORENNE (P.) [avec l'assistance technique de Liliane
CHAMAILLARD]. — Nouvelles recherches sur la restauration
induite par la catalase chez des bactéries irradiées. . . 515
- MILLOT (P.). — Voir DUJARRIC DE LA RIVIÈRE.
— Voir EYQUEM (A.).
- MORENNE (P.). — Voir MILETIC (B.).
- MOUREAU (M.) [avec la collaboration technique de N. ALADAME]. —
Recherches sur la lyophilisation des anaérobies. . . . 367

- MOUSTARDIER (G.) et PERREY (M.). — Coloration des inclusions uréthrales par la méthode de Giemsa à chaud. 829
- NÈGRE (L.). — Résistance antituberculeuse sans allergie conférée aux animaux de laboratoire par l'antigène méthylique. Etude de sa durée et de l'action préventive de ce produit associée à celle du BCG. 429
- NÉTIEN (G.), VIALIER (J.), CARRAZ (M.) et KALB (J.-C.). — Action comparée de la streptomycine et de la dihydrostreptomycine sur la croissance de tissus de carotte cultivés *in vitro* et sur un bacille de Koch streptomycino-dépendant. 400
- NORLIN (Gunnar). — Voir HUSS (Ragnar).
- NOUFFLARD (H.) et DESLANDES (M.). — Action bactéricide de l'isoniazide (hydrazide de l'acide isonicotinique) sur le bacille de Koch. 769
- NOVEL (E.). — Voir BONIFAS (V.).
- PAUTRIZEL (R.). — Voir FAURE (M.).
- PAVILANIS (V.) et LÉPINE (P.). — Recherche comparée des anticorps sériques du type Lansing chez les habitants de la province de Québec. 1
- PELLISSIER (A.) et TRINQUIER (E.). — A propos d'une épidémie de rage canine survenue à Brazzaville. 410
- — — Présence chez certains animaux de laboratoire d'inclusions neuronales cytoplasmiques colorées en rouge par le Mann pouvant simuler des corps de Negri et différenciées par l'hématoxyline de Mallory. 412
- PERREY (M.). — Voir MOUSTARDIER (G.).
- PRÉCHAUD (M.). — Un nouveau cas de pseudo-tuberculose humaine. 420
- PLACIDI (L.). — Présence au Maroc d'une infection épizootique du type de la grippe du porc. 141
- POCHON (J.) et BARJAC (H. DE). — Action inhibitrice des extraits aqueux de tourbe sur la croissance des germes du sol. 196
- Voir COPPIER (O.).
- PODLIACHOUK (L.). — Voir EYQUEM (A.).
- PODLIACHOUK (L.) et EYQUEM (A.). — Les groupes sanguins des équidés. — II. Les groupes sanguins des chevaux. . . 405
- POIRIER (M.). — Voir DESCHIENS (R.).
- PRÉVOT (A.-R.). — Voir MAZUREK (C.).
- Voir VINZENT (R.).
- et THOUVENOT (H.). — Le lait peut-il transmettre les maladies anaérobies ? 180
- — — Signification de la présence paradoxale d'une catalase chez certains anaérobies stricts. 443
- QUATREFAGES (H.). — Voir CARRÈRE (L.).
- RAYNAUD (M.), SAISSAC (R.), TURPIN (A.) et ROUYER (M.). — Formation de toxine tétanique par des suspensions de corps microbiens. 693

- READE (G.). — Voir GUILLAUMIE (Maylis).
- RENAUX (E.). — Culture de *Bacillus anthracis* en milieu calcique et en milieu oxalaté. 38
- RENOUX (G.). — Une nouvelle « espèce » de *Brucella* : *Br. intermedia* 814
- REUMONT (J.). — Voir LARUELLE.
- RICHARD (C.). — Voir BRYGOO (E.-R.).
- RIEBEL (J.). — Voir GRUMBACH (F.).
- RIST (Noël). — Voir GRUMBACH (F.).
- ROBIN (J.). — Voir EYQUEM (A.).
- ROLLAND (M.). Voir THIVOLET (J.).
- ROUX (J.). — Voir CARRÈRE (L.).
- ROUYER (M.). Voir RAYNAUD (M.).
- SAISSAC (R.). — Voir RAYNAUD (M.).
- SALAS (M^{lle}). — Voir AITOFF (M^{me}).
- SAVIARD (M.). — Voir CHEDID (L.).
- SEGRETAIN (G.). — Voir DROUHET (E.).
- SENEZ (J.). — Métabolisme des acides aminés et des amides par les bactéries sulfato-réductrices. 786
- SIMINOVITCH (L.). — Voir JACOB (F.).
— et JACOB (F.). — Biosynthèse induite d'un enzyme pendant le développement des bactériophages chez *Escherichia coli* K 12. 745
- SOUTO PATULEIA (M^{lle}). — Voir ATANASIU (P.).
- STAUB (A.-M.) et COMBES (R.). — Essai de dosage des antigènes somatiques au sein de *S. typhi*. — II. Dosage de l'antigène O dans des microbes de nombreuses souches de *S. typhi* 528
- SZULMAJSTER (J.). — Voir GRUNBERG-MANAGO (M^{me}).
- TARDIEUX (P.). — Voir MAZUREK (C.).
- TERRIAL (G.). — Voir CHABBERT (Y.).
- THIVOLET (J.) et ROLLAND (M.). — Sur la substitution de l'albumine humaine à l'albumine bovine dans le milieu de survie de Nelson pour *Treponema pallidum*. 415
- THOUVENOT (H.). — Voir MARTRES (M.).
— Voir PREVOT (A.-R.).
— Voir VINZENT (R.).
- TIGAUD (J.). — Voir VIALLIER (J.).
- TISON (F.). — Dissociation des pouvoirs bactériostatique et bactéricide de l'hydrazide isonicotinique *in vitro*. 134
— Effet remarquable, sur la tuberculose expérimentale du cobaye, de l'association de l'iodochloroxyquinoléine avec une dose subactive de streptomycine. 275
- TOUMANOFF (C.) et VAGO (C.). — Essais comparatifs sur la virulence pour *Bombyx mori* L (*Lepidoptera*) de divers bacilles entomophytes du groupe *Cereus*. 634
— — — La nature de l'affection des vers à soie due à *Bacillus*

- cercus* var. *Alesti* Toum. et Vago et les modalités d'action de ce bacille. 421
- TOUSSAINT (P.). — Voir KAUFFMANN (I.).
- TRINQUIER (E.). — Voir PELLISSIER (A.).
- TURPIN (A.). — Voir RAYNAUD (M.).
- VAGO (C.). — Voir TOUMANOFF (C.).
- VAISMAN (A.). — Voir LEVADITI (C.).
- , HAMELIN (A.) et LEVADITI (C.). — Le *Treponema pallidum* dévitalisé par le rayonnement ultra-violet est-il un antigène immobilisant ? 263
- VALLÉE (A.). — Un cas de listériose du lièvre en France. 832
- VARGUES (R.). — Propriétés non spécifiques d'un sérum de cheval hyperimmunisé (antipesteux). Importance de l'euglobuline I₁ de Sandor. 423
- VIALAT (C.). — Voir BEQUIGNON (R.).
- VIALIER (J.). — Voir BRUN (J.).
- Voir NÉTIEN (G.).
- et TIGAUD (J.). — Etude spectroscopique de la coloration prise par les mycobactéries sous l'influence du rouge neutre 402
- VIEUCHANGE (J.). — Hémagglutination et virus de la variole aviaire. 834
- et GIUNTINI (J.). — Etude au microscope électronique de l'hémagglutination due à la vaccine. 487
- VILLECOURT (P.). — Voir BLACHÈRE (H.).
- , BLACHÈRE (H.) et JACOBELLI (C.). — Etude bactériologique des *Pseudomonas* fluorescents du sol utilisant en compétition le β -hydroxybutyrate de sodium. 316
- VINZENT (R.), PRÉVOT (A.-R.) et THOUVENOT (H.). — Recherches sur le type respiratoire de *Vibrio fetus*. 266
- WAHL (R.). — Les réactivités des souches bactériennes vis-à-vis des phages. Méthodes d'évaluation. 653
- Les types réactionnels des souches vis-à-vis des phages et leurs variantes. 464
- WOLLMAN (E.). — Voir JACOB (F.).

Le Gérant : G. MASSON.